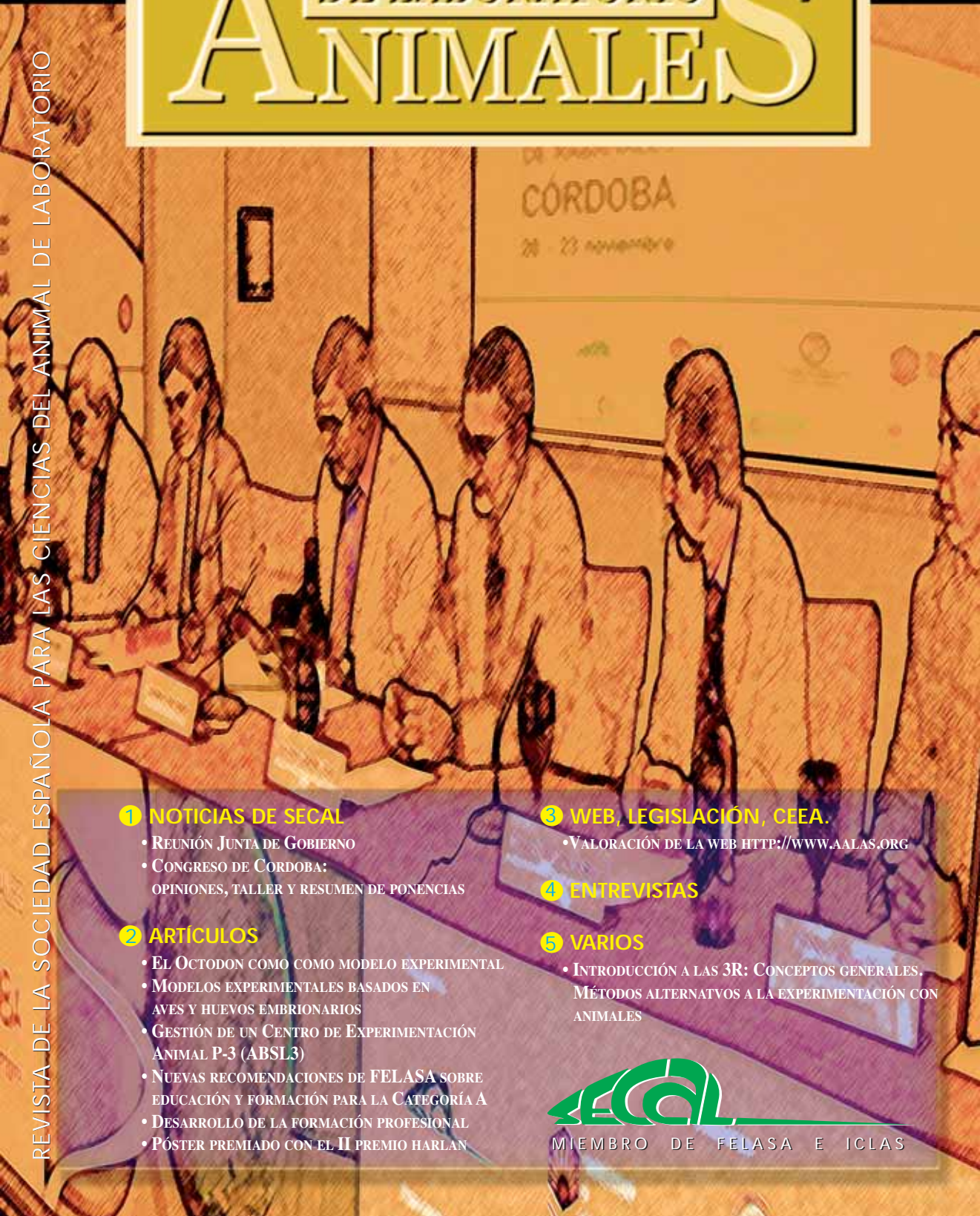


REVISTA DE LABORATORIO ANIMALES



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



1 NOTICIAS DE SECAL

- REUNIÓN JUNTA DE GOBIERNO
- CONGRESO DE CORDOBA: OPINIONES, TALLER Y RESUMEN DE PONENCIAS

2 ARTÍCULOS

- EL OCTODON COMO COMO MODELO EXPERIMENTAL
- MODELOS EXPERIMENTALES BASADOS EN AVES Y HUEVOS EMBRIONARIOS
- GESTIÓN DE UN CENTRO DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL P-3 (ABSL3)
- NUEVAS RECOMENDACIONES DE FELASA SOBRE EDUCACIÓN Y FORMACIÓN PARA LA CATEGORÍA A
- DESARROLLO DE LA FORMACIÓN PROFESIONAL
- PÓSTER PREMIADO CON EL II PREMIO HARLAN

3 WEB, LEGISLACIÓN, CEEA.

- VALORACIÓN DE LA WEB [HTTP://WWW.AALAS.ORG](http://www.aalas.org)

4 ENTREVISTAS

5 VARIOS

- INTRODUCCIÓN A LAS 3R: CONCEPTOS GENERALES, MÉTODOS ALTERNATIVOS A LA EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES



MIEMBRO DE FELASA E ICLAS



Nº 37 • Otoño 2007

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

<http://www.secal.es>

GRUPO EDITOR

DIRECTOR

Joana Visa
jvisa@idibell.org

SUBDIRECTOR

Luis Muñoz

TESORERA

Pilar Bringas

REPR. VOCALIA FORMACIÓN

Antonio Martínez

RESPONSABLES SECCIONES

Joana Visa
Emilio Pérez
Jordi Cantó
Isabel Clara Rollán
Rosa Morales
Teresa Rodrigo
Jordi Guínea

CORRECCION DE ESTILO

Joana Esteve

PUBLICIDAD

Pilar Bringas
cai.animalario@med.ucm.es

DISTRIBUCIÓN DE REVISTA

Carmina F. Criado

DISEÑA - IMPRIME

Enrique Nieto
& Asociados, S.A.
Tel.: 902 200 292
w@enyas.com

DEPÓSITO LEGAL

M-1362-1999

E D I T O R I A L

ANIMALES DE LABORATORIO

ASITENCIA AL CONGRESO DE SECAL: UNA MANERA DE FORMARSE

El pasado mes de noviembre (20- 23 de noviembre de 2007) se celebró en Córdoba el IX Congreso de SECAL. El lema escogido fue “Innovación y Refinamiento en experimentación animal” y el programa científico estuvo estructurado en ponencias, comunicaciones orales y comunicaciones en póster.

Previamente al Congreso, se organizaron dos tipos de actividades que tuvieron un gran éxito de público: los talleres y el seminario de REMA (Red Española de Métodos Alternativos a la Experimentación Animal). En el presente número de la revista se publica un resumen de uno de los talleres (gestión informática), así como de la ponencia de la Dra Argelia Castaño quien, desde las presidencia de REMA, nos presenta los conceptos generales relacionados con la aplicación de método alternativos a la experimentación con animales.

Las ponencias tuvieron una gran calidad científica y se abordaron, con claridad, temas de interés actual, como las posibilidades del diagnóstico por imagen en la reducción del número de animales, o la utilización de modelos animales no habituales. En este número, publicamos los resúmenes de algunas de las ponencias presentadas haciendo especial hincapié en temas de formación del personal: Manolo Moreno nos presenta las nuevas recomendaciones de FELASA para la formación del personal de categoría A y Carmina Fernández Criado describe el desarrollo de la Formación Profesional relacionada con el uso del animal de laboratorio

El premio al mejor póster (II Premio Harlan) fue muy competido, tanto por el alto número de pósteres presentados (más de 60), como por su calidad y afinidad al tema central del Congreso. El trabajo titulado “Establecimiento de un modelo predictivo para gestaciones tempranas en ratón”, presentado por el *Servei Experimentación Animal del Parc Científic* de Barcelona, fue el ganador de este premio. En este número publicamos el resumen de este trabajo y queremos felicitamos a Rosa Balmaseda, primera autora, a Xavier Cañas, Director del equipo, y a todo el grupo por su magnífico trabajo.

La exposición comercial, cubriendo una amplia zona con más de 30 stands comerciales, permitió poder valorar la presencia de nuevos productos y tecnologías de empresas nacionales e internacionales

La visita a la Mezquita y, sobre todo, la ruta de las tabernas cordobesas permitió a los participantes poder disfrutar de esta ciudad y de su mezcla de culturas.

Durante el Congreso de celebraron elecciones a la Junta de Gobierno y se escogió Salamanca como sede el próximo congreso. Sólo queda animar a Luis Muñoz, quien, como organizador, va a tener la difícil tarea de superar los resultados (más 230 inscritos) tan satisfactorios del Congreso de Córdoba.

JOANA VISA



Noticias de la SECAL

RESUMEN DE LA REUNIÓN DE LA JUNTA DE GOBIERNO DE LA SECAL

DEL 22 DE ENERO DE 2008

Junta de Gobierno

El pasado 22 de enero, se celebró en Madrid una reunión ordinaria de la Junta de Gobierno de la SECAL, la primera tras la renovación de parte de la Junta que tuvo lugar durante la celebración del IX Congreso, en Córdoba.

Tras la aprobación del Acta de la última reunión, se trataron los siguientes temas:

CONSTITUCIÓN DE LA NUEVA JUNTA DE GOBIERNO:

Se dio por constituida la nueva Junta de Gobierno de SECAL, según lo aprobado en reunión extraordinaria de fecha 22 de noviembre de 2007, celebrada tras la renovación de la Junta de Gobierno en la Asamblea General de la misma fecha. La Junta de Gobierno queda compuesta como sigue:

JUNTA DE GOBIERNO

Presidenta:

D^a Patrocinio Vergara Esteras

Vicesorero:

D. Jesús Martínez Palacio

Vicepresidente:

D. Manuel Moreno Calle

Vocales:

D. Carlos Costela Villodres
 D^a. Silvia Gómez Fernández
 D^a Rosario Moyano Salvago
 D^a Inmaculada Noguera Salvá
 D^a Teresa Rodrigo Calduch
 D. Hernán Serna Duque
 D^a. Joana Visa Esteve

Secretaria:

D^a Marta Giral Pérez

Tesorero:

D. José María Garrido Gutiérrez

Vicesecretaria:

D^a. Dolores García Olmo

Dña. Patri Vergara propuso una nueva distribución de las tareas de los miembros de la Junta, que fue aprobada. Esta distribución es la siguiente:

- Dña. Inmaculada Noguera coordinará los temas de comunicación de SECAL, en colaboración con Dña. Silvia Gómez.

- Dña. Joana Visa seguirá siendo la responsable de la revista "Animales de Laboratorio", en colaboración con Dña. Dolores García Olmo.

- D. Hernán Serna y D. Jesús Martínez Palacio abordarán la tarea de incrementar las actividades de SECAL dirigidas a los técnicos.

- Dña. Rosario Moyano será el enlace de la Junta de Gobierno con la organización del próximo Congreso de SECAL.

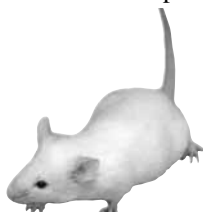
- D. Carlos Costela continuará coordinando los temas relacionados con formación, en colaboración con Dña. Teresa. Rodrigo.

- Dña. Patri Vergara, además de las tareas propias de su cargo, coordinará los temas relacionados con el Real Decreto, con la Comisión Estatal de Ética y Bienestar Animal, con FELASA y con ICLAS.

- D. Manuel Moreno, además de las tareas propias de su cargo, coordinará la organización de la próxima Asamblea General y del próximo Congreso.

- Dña. Marta Giral, además de las tareas propias de su cargo, continuará con las labores de actualización y mejora de la página web, en colaboración con Dña. Silvia Gómez.

- D. José María Garrido y D. Jesús Martínez Palacio, además de realizar las tareas propias de su cargo, redactarán los procedimientos sobre las diferentes actuaciones de la Tesorería, creando un nuevo modelo más claro de presentación de los datos económicos a los socios. Todo ello se reflejará en una actualización del correspondiente Libro Blanco.



PARTICIPACIÓN DE MIEMBROS DE LA SECAL EN LA COMISIÓN ESTATAL DE ÉTICA Y BIENESTAR ANIMAL (CEEBA):

La Presidenta de la SECAL, Dña. Patri Vergara, informó de que, tras un año y medio de inactividad, el pasado 5 de diciembre se celebró una reunión de esta Comisión, en la que ella, como representante de la SECAL, y D. Ignacio Álvarez, como representante del Consejo General de Colegios de Veterinarios, aportaron una serie de puntos a discutir, especialmente en lo que se refiere al Real Decreto 1201/2005 y a la formación de personal. Asimismo, dieron a conocer y distribuyeron entre los miembros el documento del Comité Español ICLAS que aporta directrices para los cursos de formación. La Comisión les solicitó una propuesta escrita de modificaciones del mencionado Real Decreto, que les hicieron llegar el pasado 22 de diciembre. Hasta el momento, no ha habido respuesta.

DOCUMENTO DEL COMITÉ ESPAÑOL ICLAS:

Como se ha mencionado, el Comité Español ICLAS está finalizando la elaboración de un documento que contiene directrices para la realización de cursos de formación. Una vez que esté aprobado, se hará llegar a todas las Comunidades Autónomas.

PRÓXIMOS CONGRESOS DE FELASA:

Dña. Patri Vergara informó de que FELASA solicitó a la SECAL que propusiera dos candidatos para participar en el Comité Organizador y en el Comité Científico del próximo Congreso de FELASA, que se celebrará en 2010 en Helsinki. SECAL ha propuesto para estos cargos a D. Ignacio Álvarez y a D^a. Belén Pintado. Por otra parte, se acordó presentar a FELASA una propuesta de la SECAL para organizar en España el siguiente congreso.

INFORME DE TESORERÍA:

D. José María Garrido presentó un nuevo documento para facilitar la identificación de las diferentes partidas de gastos, documento que fue aprobado.

PÁGINA WEB DE SECAL:

Se acordó incluir en la web más información para socios y futuros socios. Concretamente la siguiente:

- Se indicará que la cuota es única (indivisible) y se desglosarán las prestaciones que incluye.
- Se añadirá un apartado específico resumiendo la política de SECAL sobre las becas para formación, modalidades existentes, etc.
- Se actualizará la lista de socios de la SECAL que actúan como enlaces con las CC.AA. y se publicará en el área de socios.
- En esta área restringida, se publicará también la carta elaborada por FELASA (http://www.felasa.eu/policy_documents.htm) sobre la declaración del Parlamento Europeo, promovida por grupos “proteccionistas”, acerca del uso de primates no humanos en investigación. Por otra parte, se hará llegar a los europarlamentarios españoles una carta de SECAL explicando estos argumentos.
- En la sección de “Publicaciones”, se incluirá el CD titulado “Responsable de investigación: formación específica de postgrado en protección y experimentación animal”.

REVISIÓN Y DISCUSIÓN DE DOCUMENTOS DE FELASA:

- “FELASA Guidelines for the Accreditation of Health Monitoring Programmes and Testing Laboratories involved in Health Monitoring”. Se revisó la versión final de este documento y fue aprobado por unanimidad.

- “Guidelines for Continuing Education for Persons Involved in Animal Experiments – Recommendations of a FELASA Working Group”. Los comentarios que se realizaron fueron, básicamente, que es un documento necesario y positivo y, aunque modesto, tiene un enfoque muy realista atendiendo al statu quo de las diferentes situaciones. Asimismo, se consideró muy positivo que sea SECAL quien acredite la formación continuada en nuestro país.

LEY ORGÁNICA DE PROTECCIÓN DE DATOS: APLICACIÓN EN SECAL:

Se desarrollarán herramientas y métodos que garanticen en todo momento la confidencialidad de los datos de los socios de SECAL. Para ello se consultará con empresas especializadas.

REVISTA “ANIMALES DE LABORATORIO”:

Todos los miembros de la Junta coincidieron en la necesidad de que todos los números de la revista ofrezcan contenidos de interés para los técnicos. D.

Hernán Serna y D. Jesús Martínez Palacio trabajarán especialmente en este sentido.

TRANSPORTE DE ANIMALES:

Creación de un comité de seguimiento: durante la última Asamblea General, celebrada en Córdoba, algunos usuarios y proveedores de animales de laboratorio mostraron su inquietud por el problema originado tras las dificultades mostradas por algunas empresas transportistas a adaptarse a la nueva Ley de Bienestar Animal. Durante la Asamblea, varios socios sugirieron crear un comité de seguimiento, con una persona de contacto dentro de la Junta. D. Manuel Moreno se pondrá en contacto con las personas que solicitaron formar parte de este comité, para recabar propuestas e ideas y valorar el papel de la SECAL en este asunto.

- Próxima Asamblea General de SECAL:

Se acordó que la próxima Asamblea General se realice en Madrid, en el marco de una Jornada Científica. La fecha prevista es el 19 de noviembre de 2008 y el lugar de realización el Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC). La empresa patrocinadora este año será SOURALIT.

La próxima reunión presencial de la Junta de Gobierno tendrá lugar en Barcelona el 22 de mayo de 2008. Antes, el 27 de marzo, se celebrará una reunión por teleconferencia.



CONGRESO

LOS TÉCNICOS OPINAN

Desde la revista de la SECAL queremos agradecer su aportación al enviarnos la esqueta de opinión cumplimentada. El texto se ha mantenido en primera persona pero se han agrupado las respuestas para facilitar su lectura y valoración

Hemos recogido las opiniones de cuatro técnicos que asistieron al Congreso de Córdoba. Ellos son Francisco José Martínez García (Universidad de Alicante), María Granada Picazo Martínez (Complejo Hospitalario Universitario de Albacete), Isabel María Prados Siles (Centro Andaluz de Biología del Desarrollo) y José Pedro Sáez Martínez (Universidad de Castilla-La Mancha). Todos ellos desempeñan funciones de Categoría A y/o B en sus Centros.

ORGANIZACIÓN DEL CONGRESO

- Respecto a la organización general y las aulas, he quedado muy contenta, puesto que estaba todo muy bien planificado, las aulas eran cómodas e incluso había traductores para las charlas en inglés.
- Aunque el Campus se encontraba apartado de la ciudad, la idea del abono transporte fue muy positiva. Muy buena organización de las actividades sociales. La abundancia de ponencias y actividades científicas hizo que a veces fuera difícil coordinarlas, por ejemplo, algunos ponentes quedaron a medio en sus charlas por falta de tiempo.
- La organización del congreso en general me ha parecido muy buena. El hotel tenía buen precio y estaba bien situado. El Campus estaba bien comunicado por tren de cercanías, pero creo que faltaba mayor frecuencia a determinadas horas. Las aulas me parecieron bien.
- Lo bueno del hotel era que estaba a sólo 5 minutos de la estación y eso era una ventaja para intentar llegar a tiempo a las ponencias, ya que los horarios del tren que nos llevaba hasta el Campus no tenían mucha frecuencia.

STANDS COMERCIALES

- Estuvieron muy bien, se podía encontrar cualquier cosa relacionada con los animales de experimentación y los comerciales fueron muy amables todo el tiempo. Yo pude obtener mucha información relacionada con mi trabajo, que me ha sido muy útil.

- Al realizarse el Congreso en una Facultad, los stands estaban un poco dispersos y quizá hubiera sido necesaria más iluminación.
- El lugar para los stands comerciales me pareció un poco pequeño, limitado y no muy apropiado por ser lugar de paso. También tuve la impresión de ver pocos expositores con poco material expuesto.
- Creo que el lugar donde se encontraban los stands no fue el ideal por estar en una zona de tránsito constante de gente que entraba y salía de las ponencias.

COMUNICACIONES EN PÓSTER

- Este año los pósteres han sido de una calidad muy alta, incluso superior a la de años anteriores. Posiblemente esto se ha debido al incentivo del Premio Harlan y a la participación más directa de los técnicos.
- Los pósteres estaban muy bien y trataban temas muy diversos. El único problema es que apenas tuve tiempo de verlos porque había muchos y los descansos eran cortos.
- El lugar escogido para los pósteres me pareció bien y correcto, aunque algo separados del resto del congreso. Quizás me faltó tiempo para poder ver los pósteres detenidamente, ya que el último día cuando fui ya no quedaba casi ninguno.
- La zona de exposición la vi muy retirada del resto. Me faltó tiempo para ver con detenimiento todos los pósteres.

PONENCIAS: ¿CUÁLES DE ELLAS TE HAN SIDO MÁS ÚTILES?

- Todo lo relacionado con la gestión de animales y también la charla sobre patógenos. Respecto a los seminarios, me gustó uno sobre criopreservación, aunque fue breve.
- Las más útiles para mí han sido:
 - La sesión de "Otros modelos de animales de experimentación", aunque alguna de las ponencias, como la de peces teleosteos,

derivó más a resultados de investigación que a manejo o técnicas.

- La sesión de “Innovación en Técnicas Experimentales”
- La ponencia de Feinstein, aunque tuvieron que acortarla por falta de tiempo.
- La sensación sobre algunas ponencias es que a priori parecían muy interesantes desde el punto de vista técnico, pero finalmente estaban más orientadas hacia el investigador. Respecto a las ponencias más útiles:
 - “El octodón como modelo experimental”.
 - “Modelos experimentales basados en aves y huevos embrionados”.
 - “Enfermedades del animal de laboratorio: agregando nuevos patógenos y desempolvando viejos conocidos”⁽¹⁾.
 - “Environmental enrichment: Does it affect experimental results?”
 - Sesiones 2, 5 y 6.
- Como cuidador, pienso que las ponencias estaban más enfocadas a investigadores y responsables de animalario.

TALLERES

- Asistí al taller de “Barreras” y mi opinión es que hubiera sido deseable contar con un traductor, para los que no tenemos mucha soltura con el inglés, y también que para ser un taller esperaba más algo más práctico.
- El taller de “Fenotipaje en modelos de enfermedades humanas” no cumplió mis expectativas.

- Asistí al taller de “Barreras” y la verdad es que no pude aprovecharlo del todo, ya que no domino el inglés y la primera parte fue en ese idioma y sin traducción.

ASPECTOS POSITIVOS GENERALES

- En general, ha estado muy bien, tanto el trato personal, como la organización global del congreso. He conocido mucha gente relacionada con mi trabajo y he aprendido mucho.
- En general, el congreso me pareció muy positivo. Un diez para los organizadores y para el ambiente del congreso.
- Lo que más me ha gustado, desde el punto de vista científico, han sido las comunicaciones en póster.
- Lo más positivo: la organización en general del tiempo para ponencias, comidas y visitas a la ciudad, así como el servicio de “catering”, que se ocupó a la perfección de mantenernos bien alimentados.

ASPECTOS A MEJORAR

- En mi opinión, habría que dedicar más tiempo a los pósteres y las charlas, por lo demás, todo bien.
- Es preferible la calidad de las ponencias, a la cantidad.
- Sugiero talleres más prácticos y las comidas no tan contundentes y no tan largas.
- Sería aconsejable que el lugar de celebración de los congresos esté bien comunicado con la ciudad.

TALLER NORAYBIO

De los talleres se ha escogido el que la empresa Norabio presentó por la elevada participasen que obtuvo

INTRODUCCIÓN

Noray Bioinformatics S.L.U. (NorayBio), es una empresa bioinformática especializada en el desarrollo de software a medida para el sector de bio-ciencias.

NorayBio ha implementado, en los últimos años, herramientas bioinformáticas para la gestión

de información en más de 15 servicios de animalario españoles. Fruto de esta dilatada experiencia, NorayBio lanza al mercado un software estándar para la gestión de estabularios, adaptable a las necesidades de cualquier tipo de servicio de animalario. Este software, denominado ANIBIO, fue presentado en el IX Congreso SECAL celebrado en Córdoba.

(1) el resumen de estas dos ponencias se presentan en esta número de la revista

PresenciadeNorayBioenelCongresoSE-CAL2007

El Taller titulado “Sistema de Gestión de Animalarios: del papel al PC” se celebró el día el 20 de noviembre en el Aula de Informática del Edificio “Ramón y Cajal”.

Asistieron 35 personas de diferentes perfiles, desde técnicos hasta responsables de Animalario, y de muy variadas procedencias (laboratorios farmacéuticos, centros de investigación, hospitales, etc.) que siguieron con gran interés la exposición realizada por Aitzol Illarramendi.

EL TALLER SE ESTRUCTURÓ EN DIFERENTES APARTADOS:

- **Presentación:** se realizó una introducción a la situación actual en la que se encuentran los Animalarios y se trató de las herramientas clásicas de gestión que se han utilizado hasta ahora.
- **Introducción al software:** se presentó el software AniBio y se hizo una breve descripción de los módulos más importantes de los que consta.
- **Casos prácticos:** se facilitó a los asistentes un nombre de usuario y contraseña para que pudieran acceder a la aplicación y realizar unos casos prácticos que simulaban situaciones reales a las que se enfrentan a diario en un Animalario.
- **Coloquio y discusión:** para concluir el Taller se estableció un turno de preguntas en las que los asistentes planteaban sus dudas o explicaban sus propias necesidades de gestión.



Al finalizar el taller se facilitaron unas encuestas de satisfacción a todos los asistentes para que pudieran opinar sobre el desarrollo y los contenidos del mismo. En general, la valoración fue muy positiva y fueron muchos los que se acercaron a nuestro stand para obtener más información.

En el stand de NorayBio, tanto Aitzol Illarramendi como David Sanz atendieron a gran cantidad de gente que solicitaba información más específica acerca de AniBio. A todos se les ofreció las aclaraciones pertinentes y se les mostró con más detalle los diferentes módulos del software.

Asimismo Marta Acilu, Directora de Desarrollo de Negocio de NorayBio impartió la ponencia “Gestión informatizada de Centros de experimentación animal y colonias de transgénicos” en el marco de la sesión dedicada a “Gestión de Centros de experimentación animal”. En ella se trató de las dificultades de gestión a las que se enfrentan hoy en día los Animalarios y las ventajas que les reportaría la realización de una gestión informatizada.

2 ARTÍCULOS

RESUMEN DE PONENCIAS

EL OCTODON COMO MODELO EXPERIMENTAL



El *Octodon degus chilensis* Molina, roedor chileno perteneciente al Suborden Caviomorpha, familia Octodontidae, se perfila como un excelente modelo para la experimentación animal en múltiples líneas de investigación debido a sus peculiares características biológicas. Roedor de tamaño moderado, de pelaje marrón en el dorso y beige en el vientre, su larga cola se levanta en amplio arco y finaliza en un negro pincel terminal. Los molares semejan la forma de 8, característica de la cual ha tomado el nombre del género (Octodon). Es un roedor herbívoro, diurno y con un sistema social estructurado.

Descripción de algunas de las características más importantes de este roedor:

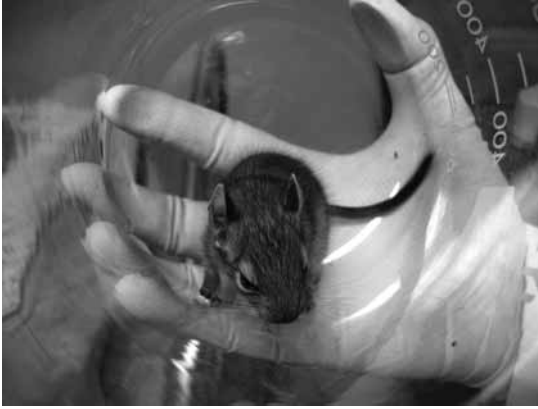
- Tamaño Adulto: 325 – 440 mm (40% cola)
- Con 14 gramos de peso corporal al nacimiento en el estado adulto alcanza los 250-300g. p.c.

Dra. Anamaria Madariaga O'Ryan
Animalario SS.TT.I.
Universidad de Alicante
animalario@ua.es

- Con un largo periodo de gestación de 90 ± 3 días, y una media de 4 crías por camada, los recién nacidos son precoces por pelaje, dientes y ojos abiertos, las vibrisas de proporciones como el adulto, semejan adultos en miniatura, y con actividad motora desarrollada desde su nacimiento.
- Vida media en cautiverio: 4.5 años

Una de las características más importante de estos animales es su actividad diurna, tanto al estado silvestre como en el laboratorio, lo cual permite trabajar con el animal en su periodo natural de vigilia.

La elección de un roedor diurno, caracterizado por diferentes cronotipos, puede ser un modelo experimental mejor que los roedores nocturnos para los estudios cronobiológicos en farmacología, psicología y etología. El Octodon, a diferencia de otros roedores, tiene algunas características en común con los humanos, que además de ser diurno posee un sistema circadiano de maduración lenta y dimórfico sexualmente, con diferencias de temperatura corporal, patrones de sueño y habilidad para copiar tareas según el sexo del animal. Presenta una gran actividad social, en la naturaleza vive en grupos y comparte juegos y tareas. Su actividad diurna, su maduración lenta y su conducta social lo



perfilan como un buen modelo para el estudio de múltiples interrogantes existentes aún sobre el sistema circadiano, entre ellos el jetlag y la rotación en turnos de trabajo. Estudios realizados en este animal han permitido concluir que el tratamiento de determinados desordenes circadianos en el humano deberían de tener en cuenta tanto la edad como el género.

Además de ser propuesto como un modelo animal para el estudio de Diabetes por su desarrollo espontáneo de hiperglucemia en ayuno y su alta incidencia de cataratas, recientemente se ha propuesto al Octodon como modelo natural para el estudio de los procesos neurodegenerativos asociados a la enfermedad de Alzheimer, al ser detectados en animales viejos unos depósitos neuronales del péptido B-amiloide similares en un 97.5% al humano. Al igual que los humanos, este animal forma placas seniles y ovillos neurofibrilares en su edad adulta, estructuras que se encuentran presentes en el cerebro de los individuos con Alzheimer, por lo que puede ser estudiado con miras a buscar una posible solución para este mal en las personas.



La mayoría de los modelos animales utilizados en estudios sobre el envejecimiento y sus modificaciones cronobiológicas han sido roedores nocturnos, a pesar de que sus ritmos de melatonina plasmática y sus ritmos de actividad motora y alimentaria se diferencian de lo que ocurre en humanos y otras especies diurnas. Por esto resulta de particular interés el estudio de las características del envejecimiento del sistema circadiano, ritmos circadianos de temperatura corporal, actividad motora general de este roedor chileno de hábitos diurnos, que además desarrolla espontáneamente procesos degenerativos similares al humano como cataratas, diabetes y placas de beta amiloide, modificaciones en sus ritmos circadianos y otras patologías relacionadas con el envejecimiento, que podrían utilizarse como biomarcadores del proceso de envejecimiento.

BIBLIOGRAFÍA:

- Bernabé, M.; García, V.; Cano, R.; Madariaga, A. Estudio de parámetros basales en el roedor diurno Octodon degus. *Animales de Experimentación*. 1999. 4 (3) :19-26
- Brown C, Donnelly TM. Cataracts and reduced fertility in degus (*Octodon degus*). *Contracts secondary to spontaneous diabetes mellitus*. *Lab Anim (NY)*. 2001 Jun;30(6):25-6.
- Fernández R. Karyotype of *Octodon degus* (*Rodentia octodontidae*) (Molina 1782)] *Arch Biol Med Exp (Santiago)*. 1968;5(3):33-7
- García, V.; Bernabé, M.; Cano, R.; Madariaga, A. Estudio de las pautas de actividad-reposo en

el roedor *Octodon degus*, como animal de laboratorio. *Animales de Experimentación*. 1999. 4 (3) :27-32

- García-Allegue R, Lax P, Madariaga AM, Madrid JA. Locomotor and feeding activity rhythms in a light-entrained diurnal rodent, *Octodon degus*. *Am J Physiol*. 1999 Aug;277
- Inestrosa NC, Reyes AE, Chacón MA, Cerpa W, Villalón A, Montiel J, Merabachvili G, Aldunate R, Bozinovic F, Aboitiz F. Human-like rodent amyloid-beta-peptide determines Alzheimer

pathology in aged wild-type *Octodon degu*. *Neurobiol Aging*. 2005 Jul;26 (7):1023-8.

- Lee TM. *Octodon degus*: a diurnal, social, and long-lived rodent. *ILAR J*. 2004;45(1):14-24
- Vivanco P, Ortiz V, Rol MA, Madrid JA. Looking for the keys to diurnality downstream from the circadian clock: role of melatonin in a dual-phasing rodent, *Octodon degus*. *J Pineal Res*. 2007 Apr;42(3):280-90.

MODELOS EXPERIMENTALES BASADOS EN AVES Y HUEVOS EMBRIONADOS

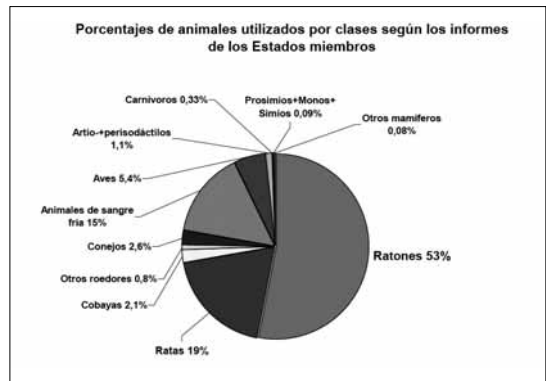
Dr. Ricard March Massós

I+D Servicio Animalario.Laboratorios HIPRA, S.A., Girona

Aunque el uso de las aves y huevos embrionados no es tan generalizado como el de otras especies en el ámbito de la investigación biomédica, sus aportaciones en los ámbitos de la nutrición y especialmente en los de las enfermedades zoonóticas, son cruciales.

Las estadísticas europeas no aportan información sobre las especies utilizadas (excepto para la codorniz) y debemos ir a las estadísticas publicadas por algunos países, como Inglaterra o Canadá, donde como mucho se habla de gallinas, pavos y codornices. Este es sin embargo el grupo mayoritario, y aunque existen más de 9700 especies, las más utilizadas en investigación son las del Orden Galliformes, entre las cuales, la gallina (*Gallus domesticus*) es la más utilizada, representando alrededor del 95% de las aves utilizadas en investigación. Dentro del mismo orden, el pavo (*Meleagris gallopavo*) y la codorniz (*Coturnix coturnix*) son también muy utilizadas. Otras especies como el pato (*Anas platyrhynchos*) del Orden Anseriformes, la paloma (*Columba livia*) del Orden Columbiformes o el loro (*Melopsittacus undulatus*) del Orden Psittaciformes son menos utilizadas.

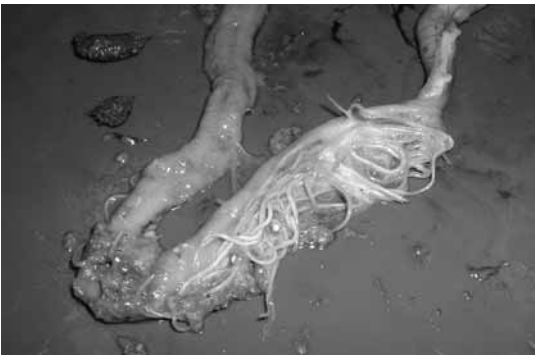
Según los últimos datos publicados por la Comisión Europea (“Cuarto informe sobre las estadísticas relativas al número de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos en los estados



miembros de la Unión Europea”), en el año 2002 se utilizaron 534.967 aves en Europa, representando el 4.99% de los animales utilizados para usos experimentales. La mayor parte de estas aves se utilizaron para estudios de enfermedades, control de calidad y desarrollo de productos propios de las aves, lo que coincide con las estadísticas publicadas por el Home Office (UK) y por el Canadian Council for Animal Care. Otros usos fueron el estudio de enfermedades humanas, como enfermedades cardiovasculares, nerviosas o mentales, cáncer y otras. También se utilizaron para la producción y control de calidad de productos para medicina humana, así como estudios toxicológicos y de seguridad. En mucha menor medida se utilizaron para diagnóstico de enfermedades o para usos educativos y de formación.

Dentro del apartado de enfermedades infecciosas, las zoonóticas y aquellas en las que las aves actúan como vectores son a las que destinan mayores recursos, como Salmonelosis,

Influenza y Fiebre del Nilo Occidental. En el caso de la Salmonelosis, una de las zoonosis de mayor incidencia en salud humana, el estudio de sus distintas cepas y mecanismos de acción, así como la investigación y desarrollo de fármacos y vacunas, han reducido de forma importante la incidencia de la enfermedad y están ayudando a conocer mejor como actúa la enfermedad en humanos.



Ascaris sp. en intestino de gallina.

Otra de las causas más frecuentes de enteritis en humanos es *Campylobacter jejuni*, que puede tener complicaciones posteriores como el síndrome Guillain-Barré. El modelo en gallina se ha utilizado para estudios de patogenia e inmunidad.

En el caso de Influenza aviar, existen líneas de investigación trabajando en diferentes objetivos, desde el estudio de como los mecanismos inmunitarios de defensa afectan la evolución de la infección y la enfermedad, caracterización de los diferentes aislados para tener una base de datos exhaustiva de las diferentes cepas, seguimiento de las poblaciones de aves salvajes, desarrollo de modelos para la evaluación de nuevas vacunas y métodos de diagnóstico así como para predecir que cepas de baja patogenicidad pueden convertirse en muy patógenas. Estas y muchas otras líneas de investigación ayudarán seguramente a controlar mejor la enfermedad en aves y también en humanos.

En el campo de las enfermedades parasitarias, a principios del siglo XX se utilizaron aves infectadas con diferentes especies de *Plasmodium* para es-

tudiar el mecanismo de acción del único fármaco contra la Malaria conocido hasta ese momento, la quinina. En los años 40 el Departamento de Salud Pública de los Estados Unidos inicio un programa para evaluar las posibilidades como tratamiento de la Malaria de más de 4000 compuestos. La mayoría se probaron en gallinas y patos.

Otro de los modelos que tiene utilidad para la evaluación previa de fármacos, en este caso antihelmínticos, es el modelo de *Ascaridia galli* en gallinas. El efecto de los tratamientos se monitoriza midiendo el número de huevos de parásitos en heces y/o mediante recuento directo de los Áscaris encontrados en el intestino durante la necropsia.

La coccidiosis, que tiene poca incidencia en humanos pero es de gran importancia en aves, especialmente en gallinas, es otra enfermedad donde la aparición de resistencias a los fármacos actuales y la investigación de nuevos tratamientos, permite avanzar en el conocimiento de los mecanismos de acción y desarrollo de inmunidad. En este caso la eficacia también se evalúa mediante recuento de ooquistes en heces de las aves, pero en algunas especies de *Eimeria* también mediante signos clínicos y lesiones en mucosa intestinal, como parámetros principales entre otros.

En el campo de las enfermedades no infecciosas, existen diferentes modelos o usos de las aves. La cardiomiopatía dilatada es una enfermedad que puede ser espontánea o inducida mediante estrés o mediante toxinas. En los dos últimos casos el pavo se utiliza como modelo y el análisis de su genoma y de sus respuestas nos ayuda a conocer mejor las bases bioquímicas y moleculares de la enfermedad. Otro de los temas de interés es la relación entre el estrés oxidativo y el envejecimiento. El estudio de aves de diferentes edades (sobre todo loros) y de los cambios asociados al estrés oxidativo y a las mutaciones del genoma mitocondrial, pueden ayudar a comprender mejor los mecanismos asociados al envejecimiento. La secuenciación del genoma del loro ayudará a avanzar en este modelo.

Las palomas también se utilizan como modelo en diversas enfermedades. Algunas razas, como la White Carneau y la Silver King han mostrado tener una alta incidencia de lesiones ateromatosas en la aorta, mientras otras no muestran esta alta incidencia. Modificando la dieta podemos utilizar estos

animales como modelos para estudios relacionados con la aterosclerosis.

También se utilizan palomas en estudios de endocrinología (como mecanismos de acción celular de la melatonina y sus alteraciones, estudios de efectos secundarios a los tratamientos con glucocorticoides), toxicología, metabolismo de los lípidos y los carbohidratos, estudios de comportamiento y en psicología (especialmente relacionados con la visión y el aprendizaje).

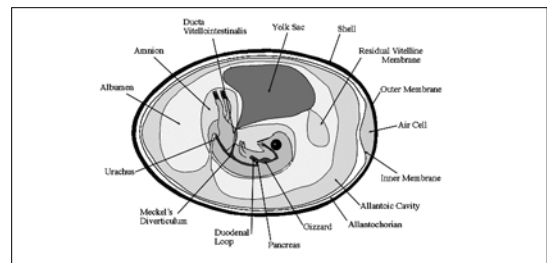
Los patos se utilizan sobre todo para estudios de toxicología (evaluación de impactos medioambientales) y como modelo para la hepatitis humana.

El uso de huevos SPF (*specific pathogen free*) es esencial en la producción de vacunas veterinarias (especialmente vacunas vivas), vacunas humanas, diagnóstico de enfermedades (aislamiento de virus como Influenza), seguimientos de periodos de cuarentena y en investigación biomédica. Sin embargo la disponibilidad de huevos SPF es limitada y existen pocas empresas dedicadas a su producción. Recientemente, el miedo generado por la posibilidad de una pandemia de Influenza y la dificultad para producir más de 300 millones de dosis al año de vacuna, han puesto en alerta a las autoridades. Aunque otros sistemas de producción, como los cultivos celulares, llevan años utilizándose, es necesario mejorar esta y otras tecnologías alternativas para que realmente tomen el relevo de los huevos en la producción de vacunas.

Otro de los potenciales usos del huevo es para la producción de proteínas. Las proteínas pueden ser anticuerpos, citoquinas, hormonas, enzimas, antígenos para vacunas o para aplicaciones diagnósticas. Mediante el uso de células germinales primordiales obtenidas de los embriones, modificadas genéticamente e insertadas de nuevo en embriones, estas modificaciones son capaces de transmitirse a las siguientes generaciones de gallinas, con la posibilidad que sus huevos produzcan proteínas humanizadas en su yema. El uso del huevo como fuente de proteínas recombinantes ofrece algunas ventajas, como los bajos costes, la esterilidad, la posibilidad de fraccionar fácilmente la yema de huevo y aislar las proteínas. De un huevo podemos obtener aproximadamente 100 mg de anticuerpos, lo que significa unos 25 g de inmunoglobulinas de una sola gallina en un periodo de puesta de un año. Algu-

nos usos podrían ser el tratamiento de infecciones entéricas como las provocadas por rotavirus y *Escherichia coli* Enterotoxigénicos (ETEC), que colonizan el intestino y producen enterotoxinas que podrían ser bloqueadas a nivel de mucosa mediante anticuerpos.

El huevo es una fuente importante de nutrientes y contiene todas las proteínas, lípidos, vitaminas, minerales y factores de crecimiento necesarios para el desarrollo embrionario, así como mecanismos de defensa frente a las infecciones víricas y bacterianas. La actividad biológica de las proteínas y péptidos derivados de los componentes del huevo continúa siendo un área de investigación donde nuevas propiedades anti-microbianas, anti-adhesivas, inmunomoduladoras, anticancerígenas, antihipertensivas, antioxidantes, entre otras, destacan la importancia del huevo en la alimentación humana así como en la prevención y tratamiento de enfermedades.



Esquema: partes de un huevo embrionado

ENLACES:

<http://scienceandresearch.homeoffice.gov.uk/animal-research/publications-and-reference/statistics/>

http://www.ccac.ca/en/Publications/Facts_Figures/aus2002.htm

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/com_2005_7_es.pdf

<http://www.nae.edu/nae/bridgecom.nsf/weblinks/MKEZ-6SZR87?OpenDocument#Author>

http://www.news.ucdavis.edu/search/news_detail.lasso?id=7794

<http://rsm.publisher.ingentaconnect.com/content/rsm/lab>

GESTIÓN DE UN CENTRO DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL P-3 (ABSL3)

*Dr. Antonio E Martínez Escandell
GlaxoSmithKline R&D, Madrid.*

Durante las últimas décadas, los antiguos animalarios han dejado de ser unas simples habitaciones destinadas al alojamiento de animales, para convertirse en unas instalaciones modernas y complejas. Es indudable, por tanto, que la gestión de estas nuevas instalaciones ha cambiado de manera considerable tanto en centros convencionales, como en centros P3. En estos últimos, la gestión es muy similar a la que se realiza en otros centros de experimentación, con la característica diferenciadora de que en éstos existen riesgos biológicos que pueden afectar a los trabajadores y al medio ambiente.

La legislación vigente define como agentes biológicos los microorganismos, con inclusión de los genéticamente modificados, los cultivos celulares y los endoparásitos humanos, susceptibles de originar cualquier tipo de infección, alergia o toxicidad. Además, están clasificados en cuatro grupos (del 1 al 4), en función del riesgo para la salud humana, teniendo en cuenta la severidad de la enfermedad, su posible tratamiento y profilaxis y la posibilidad de propagarse a la colectividad. Según la legislación, los agentes biológicos de categoría 3 son los agentes patógenos que pueden causar enfermedad grave en el hombre y tienen riesgo de transmisión a la comunidad (transmisión por aerosoles) y para los que existen, no obstante, medidas de profilaxis o tratamientos eficaces.

Por lo tanto, la diferencia fundamental en la gestión de estos centros se basa en la capacidad de reducir o minimizar el riesgo de exposición a los agentes biológicos con los que estamos trabajando. Dado que no podemos eliminar el riesgo, deberemos reducirlo mediante un buen programa de prevención y salud laboral.

El programa de prevención y seguridad laboral es el eje primordial sobre el que pivotan todas las cuestiones relativas a la seguridad laboral, siendo la misión del mismo, velar por la seguridad de las personas. En todo momento debemos ser conscientes y saber con qué estamos trabajando. Es decir, conocer los riesgos que se corren, y lo más importante, cuáles son los medios necesarios para desa-

rollar de forma segura la labor que estamos realizando. Por ello, el programa debe contemplar todos los aspectos, desde el propio diseño de las instalaciones, hasta los procedimientos de emergencia, o la eliminación de residuos, pasando por la implantación de los procedimientos normalizados de trabajo.

Es muy importante recordar siempre que la seguridad no es un hecho individual, sino colectivo, y que nuestro descuido o falta de rigor puede causar perjuicio a terceros. Conocer y participar activamente en el programa de prevención y seguridad de los centros de investigación es imprescindible. El programa debe contar con cuatro apartados, que veremos a continuación.

Para determinar el nivel de protección que se requiere en una situación dada, es imprescindible un adecuado conocimiento del riesgo implicado. La definición y cuantificación del riesgo se conoce técnicamente como evaluación de riesgos. Hay que enfatizar que todas las instalaciones son diferentes y, por lo tanto, la evaluación de riesgos, también debe ser diferente y única. Por ello es importante que se realice por personal competente y familiarizado con la instalación y el trabajo que se realiza. De hecho, cada habitación del animalario debe ser considerada de forma separada e independiente con relación al animalario, y éste a su vez será independiente en relación al centro de investigación.

En todos los centros de experimentación animal, existen riesgos de diversa naturaleza, física, química, radiológica y biológica, aunque nosotros sólo nos referiremos a estos últimos. Analizaremos detalladamente las instalaciones, maquinaria y equipos disponibles en nuestro centro de trabajo; revisaremos las especies animales con las que trabajamos, el tipo de investigación que se realiza; con que tipo de microorganismos se trabaja; si son patógenos y en qué grado, cuál es la vía de transmisión, etc. La revisión de la instalación debe ir acompañada de la revisión de los equipos idóneos para la protección de los riesgos que hemos identificado, teniendo en cuenta al personal laboral, público en general y al medio ambiente.

El conocimiento de la legislación es muy importante dado que, en primer lugar, podremos adecuar nuestras instalaciones a los mínimos exigidos por la ley y, en segundo lugar, nos permite conocer cuáles son las obligaciones y derechos, tanto de los trabajadores, como de los empresarios, para velar por la seguridad de los trabajadores. Además, el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo publica ‘Guías Técnicas’ que son documentos de gran ayuda, ya que interpretan la legislación de modo que facilita su comprensión y aplicación. La gestión y tratamiento de residuos, así como la vigilancia de salud de los trabajadores también está reflejada en la legislación.

Todo el personal implicado en el trabajo es responsable tanto de su propia seguridad, como de la de los demás. Por lo tanto, el personal debe tener información precisa sobre los riesgos con los que está trabajando y la formación necesaria para poder trabajar de una manera segura. La seguridad no es sólo la recopilación de medidas de diseño, procedimientos y equipos de protección, sino una actitud personal del trabajador ante el trabajo. Por ello, los trabajadores son la pieza clave en este tipo de instalaciones, debiendo estar, en todo momento, capacitados para desarrollar su trabajo de una forma segura.

Los procedimientos de trabajo, protocolos experimentales, notas técnicas sobre equipos y, en general, toda aquella documentación que se considere necesaria, debe estar claramente establecida y accesible para todo el personal. La diversidad y complejidad de los procesos y el número de personas implicadas en las distintas áreas (auxiliares, personal de limpieza, personal cuidador de animales, técnicos de investigación, investigadores, administradores) de la experimentación animal, hace imprescindible el uso de procedimientos por escrito, para asegurar que la información se transmita correctamente. Es muy importante que todos los trabajadores conozcan y sigan paso a paso los procedimientos y normas para garantizar un trabajo seguro. Es esencial evitar el desconocimiento, las prisas y la improvisación cuando se trabaja con sustancias o agentes peligrosos, ya que éstos conducirán al error y presumiblemente al accidente. Debemos conocer en todo momento qué debemos hacer, cuándo y cómo.

Todo el conjunto de equipos y medidas utilizadas para la contención de los riesgos se denominan

barreras de seguridad o mecanismos de barrera. Las barreras primarias son las utilizadas para la protección del trabajador y las secundarias para la protección del medio ambiente. Dentro de las barreras primarias podemos diferenciar entre equipos de protección individual, incluyendo vestimenta, guantes y sistemas de protección respiratoria, ocular y acústica; y los equipos de control de dispersión aérea. La función de estos equipos es evitar la transmisión por el aire de agentes peligrosos. En este apartado se incluyen las cabinas de bioseguridad, los aisladores, armarios y racks ventilados y los microaisladores. El mecanismo de funcionamiento de estos equipos es la delimitación de una zona de trabajo por medio del control de flujos de aire, o una separación física real, como en el caso de los aisladores. Todo el aire que pasa de las zonas de trabajo al exterior siempre será previamente filtrado mediante filtros absolutos (HEPA), que no dejarán escapar a los agentes patógenos desde las zonas de trabajo hacia el exterior.

Las barreras secundarias son todos aquellos elementos de la instalación cuyo objetivo es proteger el medio ambiente exterior. Es decir, todo lo que salga desde nuestra instalación hacia el exterior debe ser material no contaminante o inocuo para el medio ambiente. Dentro de este grupo tenemos varios elementos o mecanismos. La contención básica se realiza mediante gradientes de presión, de forma que el flujo de aire siempre se desplazará del exterior al interior para evitar que cualquier agente contaminante difunda hacia el exterior.

Por otro lado, todo el flujo desde el interior hacia el exterior deberá ser tratado de acuerdo a la naturaleza del mismo para proteger el medio ambiente. Así, por ejemplo, todos los efluentes líquidos deben ser sometidos a tratamiento físico (autoclavado) o químico para asegurar su esterilización; los sólidos no reutilizables deberán ser autoclavados antes de eliminarse y los reutilizables pueden ser autoclavados, si el material lo permite, o tratados mediante agentes físicos (radiaciones, ultravioleta) o químicos antes de su reutilización.

Los procesos de limpieza, desinfección y esterilización, deben optimizarse cuando estamos trabajando con agentes biológicos peligrosos. Por ello, es importante la elección de materiales de construcción resistentes a los desinfectantes, la reducción de zonas críticas o “sucias” y por último, es re-



Figura 1. Señal de Peligro Biológico.

comendable integrar los equipos de desinfección y esterilización en el diseño original de la instalación.

Como consecuencia de la actividad normal en el centro de investigación, se va a producir una gran cantidad de residuos. La gestión de los residuos se inicia en el momento mismo de su producción y termina cuando el residuo ha sido destruido o inac-

tivado de forma segura para la comunidad y el medio ambiente. Es obvio decir que estos residuos contendrán aquellos agentes biológicos con los que se esté trabajando y, por lo tanto, deben manipularse y recibir el mismo tratamiento que el resto de elementos en la instalación. Una buena gestión debe contemplar al menos las siguientes fases: segregación, transporte, almacenamiento antes del tratamiento, tratamiento específico, almacenamiento hasta su eliminación y por último, eliminación definitiva. Debido al gran impacto sobre la comunidad, el tema de gestión de residuos se encuentra intensamente legislado, tanto a nivel estatal como autonómico.

Por último, para tener éxito en la gestión de una instalación P3, debemos asegurar una buena gestión de todos los elementos técnicos, de construcción e ingeniería, aparatos y equipos destinados a la contención de los agentes de riesgo. Las mejores instalaciones o unos excelentes equipos mal manejados o deficientemente mantenidos pueden estar generando mucho más peligro que el que pretenden eliminar. Conviene recordar que todas las instala-

AGENTES BIOLÓGICO DEL GRUPO DE RIESGO	RIESGO INFECCIOSO	RIESGO DE PROPAGACIÓN A LA COLECTIVIDAD	PROFILAXIS O TRATAMIENTO EFICAZ
1	Poco probable que cause enfermedad	No	Innecesario
2	Pueden causar una enfermedad y constituir un peligro para los trabajadores	Poco Probable	Posible generalmente
3	Puede provocar una enfermedad grave y constituir un serio peligro para los trabajadores	Probable	Posible generalmente
4	Provocan una enfermedad grave y constituyen un serio peligro para los trabajadores	Elevado	No conocido en la actualidad

Tabla 1. Clasificación de los agentes biológicos.

ciones y equipos destinados a la protección del personal y del medio ambiente deben mantenerse en perfecto funcionamiento con un programa adecuado y periódico de revisiones y validaciones desde la adquisición hasta su utilización rutinaria, para asegurar que cumplen en todo momento con su propósito.

Una manera sencilla, aunque no barata, de garantizar el funcionamiento de nuestras instalaciones es asegurarnos de que todos los sistemas de barrera funcionen perfectamente aunque exista un fallo de energía, suministro o avería del equipo. Para ello contaremos con sistemas autónomos de energía y además, tendremos todos los equipos clave duplicados, como puedan ser los equipos de climatización y los autoclaves.

NUEVAS RECOMENDACIONES DE FELASA SOBRE EDUCACIÓN Y FORMACIÓN PARA LA CATEGORÍA A

Manuel Moreno Calle
Representante de SECAL

Tanto el Consejo de Europa (*Convenio ETS 123, Artículo 26*) como la Unión Europea (*Directiva del Consejo 86/609/EEC, Artículo 14*), requieren que las personas que cuidan animales hayan recibido la formación adecuada. En 1993, el Consejo de Europa, siguiendo una propuesta de FELASA, desarrolló este requerimiento mediante la *Resolución sobre las personas que trabajan con animales de laboratorio* en la que se establecían cuatro categorías: A, B C y D.

FELASA elaboró en 1995 (Laboratory Animals, 29) unas *Recomendaciones* sobre el contenido y duración de la formación para la Categoría A. Estas recomendaciones siguieron un patrón similar al de la formación propuesta por el Instituto de Tecnología Animal (I.A.T.). En ellas se establecieron cuatro niveles para la categoría A que comprendían desde los cuidados básicos correspondientes al nivel A1; el de cuidador especializado o experimentado del nivel A2; el de técnico experto con funciones de supervisión sobre los demás cuidadores, que podríamos asimilar a un encargado de animalario, para finalizar con el correspondiente al experto en bienestar animal del nivel A4, similar a la categoría D.

Esta subdivisión de la categoría A en cuatro niveles planteaba un cierto desencuentro con la Resolución del Consejo de Europa y con muchas legislaciones nacionales, en las que solo se establece una categoría A. El modelo además creaba una

cierta duplicidad por cuanto las categorías A4 y D resultaban similares y los contenidos de la A2 tenían mucho en común con la categoría B. El desencuentro se agravó a partir de la creación del Comité de Acreditación de Cursos de FELASA, ya que la excesiva duración requerida para alcanzar estos niveles – tres a cinco años - frente a las 40 horas totales para lograr un nivel B, dio lugar a que las Recomendaciones tuvieran poco eco en los programas de formación de cursos de categoría A en los diferentes estados, y por ende, dificultó la acreditación de estos cursos porque no se adaptaban a las Recomendaciones.

Para resolver estos problemas, FELASA propuso la creación de un nuevo Grupo de Trabajo (WG) para que elaborara unas nuevas recomendaciones, con el objetivo de armonizar la formación en Europa y que permitieran mejorar las posibilidades de acreditación de los cursos de Categoría A. El nuevo WG, formado por diez representantes de asociaciones miembros de FELASA, se creó en 2005, y ha sido coordinado por Jürgen Weiss, representante de la sociedad alemana GV- SOLAS. Seis de los miembros del WG, los representantes de GV-SOLAS (Alemania), AFSTAL (Francia), AISAL (Italia), SGV (Suiza), BCLAS (Bélgica) y LASA (UK), son miembros ordinarios, es decir, asisten a las reuniones, mientras que los otros cuatro, representantes de Balt-LASA (Lituania), SCANDLAS (países escandinavos), NVP (Holanda) y SECAL

(España), son miembros por correspondencia, es decir, emiten sus opiniones y colaboraciones a través del correo electrónico, pero no asisten a las reuniones.

A modo de directriz del trabajo a realizar, FELASA elaboró un documento bajo el epígrafe *Términos de Referencia* sobre los que el WG debería desarrollar su labor. En resumen, este documento señalaba que, basado en la experiencia del Comité de Acreditación de Cursos, las actuales Recomendaciones representaban un modelo excesivamente complejo y desacorde con los sistemas educativos; que estos sistemas eran muy diversos en los diferentes países europeos y que, por tanto, era necesario elaborar unas nuevas Recomendaciones más simples, con el objetivo de armonizar los sistemas educativos de todos los países europeos y que mejoraran las posibilidades de acreditación de cursos. El documento proponía también un esquema de trabajo consistente en una revisión de la situación en cada uno de los países de los representantes del WG y, sobre la base de esta revisión, se debían elaborar unas nuevas recomendaciones sobre el contenido y duración de los programas educativos.

Siguiendo el esquema propuesto, tras la información remitida por cada uno de los miembros del WG y utilizando como base las recomendaciones de 1995, en la primera reunión se decidió reducir la categoría a dos niveles A1 y A2. Se pidió a los representantes que redistribuyeran los contenidos de las anteriores Recomendaciones de FELASA entre las dos nuevas categorías de acuerdo a su criterio, incluyendo nuevas sugerencias o eliminando las que se consideraran inapropiadas, y que a la vez realizaran propuestas sobre la duración que debería tener la formación.

Las nuevas Recomendaciones

La decisión final para el primer borrador fue tomada en la segunda reunión de miembros ordinarios y aunque, de acuerdo con los *Términos de Referencia*, debería armonizar la diversidad de sistemas educativos, el resultado de este borrador se asemeja notablemente al sistema de Formación Profesional existente en Alemania y Suiza y se aleja diametralmente de la realidad de los países en los que no existe esta rama de formación profesional.

El borrador mantenía la propuesta inicial de que existieran dos niveles dentro de la categoría A. Si-

guiendo las directrices de las anteriores Recomendaciones, se consideró que no es necesario acreditar experiencia previa para realizar esta formación, pero sí, en general, demostrar un cierto interés por los animales y la aceptación de su utilización en experimentación.

Para conseguir el nivel A1 es necesario realizar un curso académico de 400 horas lectivas, 200 de ellas teóricas y otras 200 prácticas, en una escuela de formación profesional o en cursos especiales. Además deben realizarse 1600 horas de prácticas tuteladas en un animalario de una institución o empresa, a lo largo de dos años, siguiendo un proceso de evaluación continuada.

Después de este período habrá que superar un examen final.

Para alcanzar el nivel A2 será preciso realizar otro curso de 400 horas, igualmente 200 teóricas y 200 prácticas y un año más de prácticas laborales evaluables y también habrá que superar un examen final. Se considera que el paso del un nivel a otro no es automático, ya que no todos los que alcancen el nivel A1 podrán optar al nivel A2.

Se considera también que el proceso de aprendizaje no debe terminar con la consecución del nivel A2, sino que teniendo en cuenta que la situación dentro de la investigación biomédica está en constante cambio, debería desarrollarse un sistema educativo que asegurara un proceso de educación continua.

Para impartir estos cursos se requiere una combinación de expertos en cada una de las materias, que pertenezcan a las categorías A2, B, C y D.

Valoración de las recomendaciones

Antes de presentar el borrador a FELASA el coordinador del WG propuso una amplia ronda de consultas previas, entre todas las asociaciones miembros de FELASA para que éstas dieran su opinión e hicieran sus aportaciones. El borrador recibió numerosas críticas, especialmente desde SECAL, LASA y Balt-LASA.

La propuesta de SECAL era la establecer una única Categoría A, sin niveles y una duración de los cursos similar a lo que se recomienda para la Categoría B. SECAL también considera que la forma-

ción profesional es la situación idónea para crear buenos profesionales, pero no debe ser la única vía porque esta formación no está establecida en muchos países y porque, además, ignora al resto de personas que, bien no están en edad escolar para realizar esta formación o bien han cursado otro tipo de estudios: diplomados, licenciados universitarios, etc., quienes no tendrían opción de optar a la categoría A.

Por estas razones, desde SECAL se considera que la propuesta plantea unos requerimientos excesivos, lo que la hace inviable en estos momentos para España y para muchos otros países europeos. En realidad, creemos que solo es viable para una minoría de países, tan solo algunos de los que la han apoyado. Si esta propuesta sale adelante, no se habrá logrado uno de los principales objetivos que era el de armonizar la formación en todos los países del entorno europeo y, sobre todo, se está aún más lejos de facilitar la acreditación de cursos de Categoría A.

De esta manera, aquellos países que no puedan acceder a una formación como la propuesta, tampoco podrán acreditar los cursos.

Al margen de la duración del curso, SECAL también discrepaba en la denominación de las ca-

tegorías. Así mientras el Consejo de Europa en su Resolución sobre educación para las personas que trabajan con animales, dice textualmente que la categoría A corresponde a las personas que cuidan los animales, sin embargo el WG decidió emplear la denominación de Técnicos para estas personas.

Tras las críticas recibidas, se propuso una nueva reunión del WG, esta vez con presencia de todos los miembros - aunque finalmente no pudieron asistir los representantes de SCANDLAS, NVP y AFSTAL. La reunión no sirvió para introducir ninguna nueva modificación sustancial, sino que resultó un mero proceso de corrección del texto, sin que se aceptaran ni una sola de las propuestas de reducción del tiempo, sugeridas por Balt-LASA, SECAL o LASA.

En el mes de noviembre la propuesta fue discutida en el Comité de FELASA donde recibió el apoyo de algunos países y las críticas de otros. Finalmente se decidió pedir al WG que elaborara una nueva propuesta en la que se introdujera una nueva categoría A0 en términos similares a los que proponía SECAL. El WG tiene previsto celebrar una nueva reunión los días 3 y 4 de abril, en la que se decidirá las modificaciones que se introducen en el documento.

DESARROLLO DE LA FORMACIÓN PROFESIONAL

*Carmen Fernández Criado
Gabinete Veterinario
Universidad Autónoma de Madrid*

El RD 12001/2005 de 10 de Octubre, BOE, en su artículo 9 y Anexo I, establece la clasificación, características formación y acreditación de las personas competentes para trabajar con animales de experimentación. En la disposición final segunda, se faculta al Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) para establecer la formación de este personal.

La Dirección General de Formación Profesional del MEC, propuso, una vez analizado el mercado laboral del sector y verificada la ausencia de for-

mación de técnicos, incluir en el Catalogo Nacional de Cualificaciones Profesionales, dos nuevas cualificaciones que permitan formar técnicos de las categorías A y B .

El sistema Nacional de Cualificaciones y Formación Profesional (SNCFP), se crea para responder a las demandas de cualificación de las personas y empresas y es el Instituto Nacional de las Cualificaciones (INCUAL), el organismo responsable de definir, elaborar y actualizar el Catalogo Nacional de Cualificaciones profesionales.

En este contexto, el INCUAL, constituye un grupo de expertos en las Ciencias del Animal de Laboratorio, que actualmente está elaborando dos nuevas cualificaciones profesionales incluidas dentro de la Familia de Sanidad, área de Investigación y Desarrollo :

1. Cuidador de animales para experimentación y otros fines científicos (Categoría A)
2. Realización de procedimientos de investigación con animales (Categoría B).

La metodología que se sigue para su elaboración se basa a la utilizada en la elaboración del catálogo de Títulos de Formación de la Administración Educativa y los certificados de profesionalidad de la Administración Laboral.

Estas cualificaciones, una vez aprobadas y publicadas en el BOE mediante Real Decreto, se impartirán en Institutos de Enseñanza Secundaria (IES) completando su formación en un medio de trabajo real. El alumno podrá obtener un Título o un Certificado de Profesionalidad que quedará así mismo establecido mediante un Real Decreto

El nivel se establece según el grado de complejidad del puesto de trabajo, así la categoría A corresponde a Nivel 2 y la categoría B a Nivel 3.

La Cualificación Profesional se estructura en 4 partes

- Competencia general: define el contenido esencial del profesional
- Unidades de competencia: El conjunto de procesos y funciones del puesto de trabajo
- Entorno profesional: Sectores productivos, ocupaciones y puestos de trabajo

Formación asociada. Módulos formativos asociados a cada unidad de competencia necesarios para adquirir las capacidades correspondientes a cada unidad de competencia

Cualificación profesional: Cuidador de animales para experimentación y otros fines científicos (Categoría A)

Competencia general: Producir, cuidar y mantener animales utilizados para experimentación y otros fines científicos realizando tareas rutinarias

mediante protocolos normalizados de trabajo y en condiciones de seguridad, bajo la supervisión del especialista en bienestar animal, y cumpliendo la normativa vigente.

Se establecen cuatro Unidades de Competencia que están asociadas a sus respectivos módulos formativos.

1. Producir y preservar animales para mantener los censos en centros que alojan animales de experimentación.
2. Limpiar y mantener locales, materiales y equipos de instalaciones dedicadas al alojamiento de animales.
3. Manipular animales asociados a procedimientos que se realizan en centros de experimentación.
4. Prevenir riesgos laborales asociados al manejo de animales y sustancias en el puesto de trabajo.

La duración de los módulos formativos se estima que tendrán una duración de 450 horas de docencia teórico-práctica

Cualificación profesional: Realización de procedimientos de investigación con animales (Categoría B).

Competencia general: Realizar procedimientos en animales utilizados para experimentación y otros fines científicos incluyendo tareas como el manejo e inmovilización de animales, la recogida de datos, la administración de sustancias y la obtención de muestras biológicas y su procesado, técnicas de anestesia, analgesia, eutanasia y cirugía o técnicas de reproducción asistida, bajo la supervisión de personal investigador mediante protocolos normalizados de trabajo, y cumpliendo la normativa vigente.

Se establecen cinco Unidades de Competencia asociadas a sus correspondientes módulos formativos. Esta cualificación tendrá una formación transversal común con otras del Área Sanitaria:

1. Manipular animales asociados a procedimientos que se realizan en centros de experimentación
2. Realizar procedimientos experimentales en animales evaluando su bienestar para la obtención de datos de investigación..

3. Realizar técnicas de reproducción animal para la obtención y mantenimiento de modelos experimentales animales
4. Realizar procedimientos experimentales con órganos aislados, tejidos y células
5. Recoger y Procesar muestras biológicas para su estudio y realizar análisis clínicos elementales
6. Realizar análisis de biología molecular en muestras biológicas.

Esta cualificación está en fase de elaboración por lo que aún no se ha determinado la duración de los correspondientes módulos formativos asociados.

Una vez completado el proceso las cualificaciones se someten a contraste externo por empresas y organismos del sector, reciben el informe preceptivo del Consejo de Formación Profesional sometiéndose posteriormente al Consejo Escolar del Estado y a departamentos implicados antes de pasar al Gobierno para su aprobación definitiva y su publicación en el BOE.

La publicación de estas cualificaciones, contribuirá a integrar y adecuar la formación de los futuros trabajadores en instalaciones de animales de laboratorio además de contribuir positivamente en el bienestar de los animales y los resultados de la investigación.

PÓSTER PREMIADO CON EL II PREMIO HARLAN

ESTABLECIMIENTO DE UN MODELO PREDICTIVO PARA GESTACIONES TEMPRANAS EN RATÓN FORMACIÓN PARA LA CATEGORÍA A

*R. Balmaseda; M. L. Larramona; J. Navarro; J. González; A. Altafaj; X. Cañas
SERVEI DEXPERIMENTACIÓ ANIMAL, PARC CIENTÍFIC DE BARCELONA
SEA-PCB, C. JOSEP SAMITIER, 1-5
08028 Barcelona. Teléfono. 34934037008
E-mail: jgonzalez@pcb.ub.es*

RESUMEN

La extracción de embriones de ratón en estadios tempranos (E6-E10 días), es un método utilizado con frecuencia en investigación. La obtención de muestras embrionarias es un proceso vital para profundizar en el conocimiento de la expresión de moléculas que participan en su desarrollo. Así mismo, constituye una herramienta muy útil para entender los mecanismos que afectan a la tolerancia embrionaria a diferentes fármacos (p.e. en el estudio de teratogénias). En el siguiente trabajo en primer lugar, se detalla la obtención y el posterior manejo de embriones tempranos.

Desde el sacrificio y cesárea de la hembra gestante, manipulación de los cuernos uterinos y los embriones, hasta su observación bajo microscopía óptica. En segundo lugar, se propone un modelo matemático que permite realizar una estimación de estadios tempranos de gestación a partir del incremento de peso de las hembras. Para realizar el estudio se cruzaron 66 hembras de la cepa C57BL/6J con edades comprendidas entre 2 y 6 meses. Se han realizado cruces con detección matinal de tapón vaginal

se han pesado las hembras diariamente. Se estableció como criterio de exclusión la ausencia de incremento de peso en porcentaje (IPP), a E6, así como un IPP superior al 5% a E1. Tras aplicar dichos criterios, quedaron 39 hembras seleccionadas para pasar a formar parte del estudio. Una vez registrados los datos de peso de los animales, se analizaron ensayando ecuaciones polinómicas, alométricas y exponenciales mediante el PROC GLM del paquete estadístico SAS®. Fue seleccionada la función polinómica de segundo grado $IPP = 0.02x^2 + 1.59x - 2.59$ ($r = 0.80$, $SD = 2.64$) donde x se define como día de gestación. Los resultados muestran como a día E0 y E1 las hembras presentan una disminución de su peso corporal ($IPP = 2.59\%$ a E0, $IPP = 1.02\%$ a E1). A partir de E2 el IPP es positivo (0.51%), resultando esta variable un valor predictivo de gestación a partir de E6 ($IPP = 6,23 \pm 3.09$; 95% de confianza). Así pues, con este modelo podemos establecer criterios decisivos respecto a falsos positivos o a reabsorciones embrionarias. Supone también una implementación de las 3Rs al traducirse en una reducción efectiva de las hembras utilizadas a sólo las gestantes positivas.

3 WEB

Legislación, CEEA

AMERICAN ASOCIATION FOR LABORATORY ANIMAL SCIENCE

[HTTP://WWW.AALAS.ORG](http://www.aalas.org)

*Revisión página web:
Isabel Clara Rollán*

AALAS es la Asociación Norteamericana para la Ciencia del Animal de Laboratorio. El objetivo de la sociedad, desde su fundación en 1950, ha sido promover el uso de los animales de experimentación de manera responsable.

La consecución de dicho objetivo se pretende lograr por varios métodos:

- Por una parte, la certificación, tanto del personal técnico (en sus diferentes categorías), como a nivel de gerencia o dirección. La certificación avala la competencia y profesionalidad de las personas que desarrollan su labor en este sector y se consigue por medio de una serie de pruebas selectivas que varían en función del grado que se pretenda consolidar. La experiencia laboral también es valorable. Algunas de las áreas donde los aspirantes deberán demostrar su capacidad son: legislación, administración y gerencia, anatomía y fisiología, genética y nomenclatura de transgénicos, nutrición, comportamiento, etc.
- El desarrollo profesional. En la web del AALAS, se potencian la formación y el reciclaje de conocimientos por medio de la realización de cursos específicos (algunos de ellos vía on-line). Sorprende la cantidad de referencias listadas por cada una de las áreas señaladas en el apartado anterior.

La aptitud de los profesionales se gratifica con la concesión anual de premios de diversa cuantía. Se premia desde la labor del técnico, hasta la labor científica o la búsqueda de técnicas de reducción, reemplazo o refinamiento.

- La información está disponible en las distintas publicaciones a las que se tiene acceso, una vez abonada la cuota de inscripción correspondiente (“Comparative Medicine”, “JAALAS”, “Tech Talk”...) o la aportada por los profesionales en los distintos foros de discusión. De todos modos, el intercambio de información tiene otro de sus máximos exponentes en el congreso que se realiza anualmente y que este año, en noviembre, celebrará su 59th edición.

Otra de las opciones presentadas y que facilitan enormemente el flujo de información, es la “speaker’s list”. Se trata de una base de datos que engloba a distintos expertos los cuales pueden ser reclamados como ponentes en algún congreso o jornada.

Existen también algunos apartados con información preparada para el público no especializado que justifique su interés con razones importantes.

Estos apartados son:

- El uso de animales en investigación biomédica.
- El reconocimiento del dolor o angustia y formas de aliviarlo.
- Las respuestas cortas a preguntas frecuentes (FAQ's), etc.

El objetivo es implicar al resto de la sociedad en estos temas. Es sugerente que, en la sección de búsqueda de empleo, la propuesta se realice con frases como:

¿Quieres ser un profesional que trabaje con determinación para mejorar la vida de las personas y los animales?.

Es la primera vez que veo algo parecido de entre todas las webs revisadas hasta la fecha.

Menciona igualmente los distintos tipos de empleo: funciones del operador, salario orientativo....etc.

Lo mejor de la web es la ingente cantidad de enlaces enumerados referentes a la búsqueda de trabajo.

Otro apartado interesante es el destinado a la prensa que sin duda juega un papel importante en la difusión de la información al público en general y que acertadamente, han tenido en cuenta.

La información relacionada es bastante extensa y se distribuye por categorías según los colectivos: técnicos, anunciantes, prensa, público en general...). Incluye también multitud de enlaces a: universidades, centros y organizaciones, tanto nacionales como internacionales. El único inconveniente, por decirlo de alguna manera, es que la mayor parte de la información de consulta está reservada a los socios. Este aspecto negativo viene siendo cada vez más habitual.

La web incluye, como en toda página que se precie, un motor de búsqueda para agilizar la exploración.

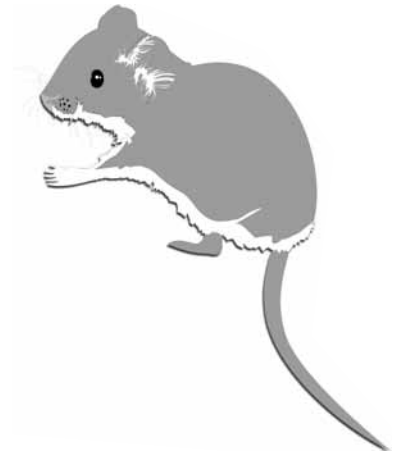
Valoro muy positivamente que se ponga tanto empeño en la preparación del personal que trabaja con animales de experimentación, ya que más que una posibilidad, se ha convertido en una obligación

moral. Igualmente relevante es que esa "obligación" se vea respaldada por una amplia oferta de formación (algo que en otros lugares no sucede).

Otros aspectos muy interesantes son:

- La fundación AALAS, creada para recaudar fondos para proyectos de investigación en biomedicina.
- El hecho de que traten de implicar más a los técnicos (interesa su opinión, participación y su efectiva contribución al conocimiento).
- Bibliografía bastante completa y la venta de manuales especializados.
- Un calendario de actividades que incluye eventos de las distintas organizaciones, tanto nacionales como internacionales.

Sin duda, la web de la Asociación Norteamericana para la Ciencia del Animal de Laboratorio es un instrumento de consulta bastante recomendable para todo aquel que precise información en cuanto al animal de laboratorio se refiere. Sumergirse en la página por unos instantes puede resultar en un "viaje" de lo más productivo.



4 ENTREVISTAS

PERFILES RELACIONADOS CON LA CIENCIA
DEL ANIMAL DE LABORATORIO



CARMINA FERNANDEZ CRIADO

Lugar de Trabajo:

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID

Breve descripción del cargo que ocupa:

DIRECTORA DEL GABINETE VETERINARIO de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM). Este servicio suministra animales de experimentación a los investigadores de la UAM

Años Experiencia:

30

Sociedades en las que participa:

SECAL, Sociedad española de primatología, Asociación española de Bioética, REMA. Sociedades y Fundaciones relacionadas con las personas con discapacidad.

Participación dentro de SECAL:

Miembro fundador de SECAL. Secretaria de la Junta de Gobierno desde 1990 a 1994. Presidenta de SECAL desde 1996 a 2001

Desde la constitución de SECAL he colaborado con las diferentes Juntas de Gobierno en diversas actividades. Esta sociedad me ha permitido hacer grandes amigos, personas que nunca hubiera conocido y de las que he aprendido muchas cosas. Lo mejor que tiene SECAL son sus socios.

¿Cómo se inició en el campo de la ciencia del animal de laboratorio?

En la UAM, el puesto de veterinario estaba vacante y era el único profesional con esta titulación en la UAM. Posteriormente recibí formación en CC del animal de laboratorio a través de los cursos impartidos en la Universidad de Barcelona

Resumen de su actividad profesional

Licenciada en Veterinaria, Licenciada en Medicina y Doctor en Medicina por la UAM.

Formo parte del Comité de Ética de la UAM,

de la Comisión de Bioética de CSIC y del CEEA del Hospital La Paz de Madrid. A lo largo de estos años, he colaborado con grupos de investigación de la UAM.

Mi prioridad es dar un buen servicio a los investigadores de la UAM y formar futuros técnicos. Desde hace 15 años, con el programa FINNOVA de la Comunidad de Madrid, participamos en la formación de alumnos de Formación Profesional en esta actividad, todos trabajan satisfactoriamente en esta área. He participado como docente y organizado numerosos cursos de formación en CC del animales de Laboratorio.

Actualmente formo parte de un grupo de trabajo que elabora una nueva cualificación relacionada con los animales de Laboratorio que se incorporará al Catalogo Nacional de Cualificaciones Profesionales (MEC), lo que permitirá a los técnicos formarse a través de la Formación Profesional reglada

¿Cuáles son los temas que más le interesan relacionados con la ciencia del animal de laboratorio?

La docencia, la patología y el diseño de nuevas instalaciones

¿Que consejos daría a los que ahora se inician?

Formarse. Es importante que se implique en las actividades de SECAL, para relacionarse con otros compañeros y adquirir nuevos conocimientos y una serie de experiencias que difícilmente se podrían conseguir si están aislados.

¿Qué opinión le merece la oferta de formación presente en España?

Los cursos son, en mi opinión, muy buenos. Creo que faltan cursos monográficos para actualizar las nuevas tecnologías que van surgiendo.

Cite dos profesionales a los que sería interesante poder realizar este cuestionario

Javier Palacín Urquijo. Pilar Bringas Lastra

XAVIER CAÑAS PEREA

Lugar de Trabajo:

Servei d'Experimentació Animal, Parc Científic de Barcelona (SEA-PCB)

Breve descripción del cargo que ocupa:

Responsable del SEA-PCB, Asesor en Bienestar Animal del mismo, y Presidente del CEEA del Parc Científic de Barcelona

Años Experiencia:

desde 1989, 19 años

Sociedades en las que participa:

SECAL-FELASA, CBC, SCB, SENBA, SEEDO, EASO, JASO

Participación dentro de SECAL:

Desde el año 2000.

¿Cómo se inició en el campo de la ciencia del animal de laboratorio?

En mi último año de la licenciatura de Biología, compaginé el período de alumno interno en el departamento de Bioquímica y Biología Molecular con el cuidado y gestión de la colonia de ratas Zucker (genéticamente obesas). Al año siguiente opté a una plaza de cuidador en el animalario de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona. Durante la realización de la tesina y, más tarde de la tesis doctoral, fui desempeñando funciones como técnico y, más adelante, como responsable del animalario de la Facultad de Farmacia de la U.B. Después de un período post-doctoral en el extranjero, me reincorporé en el animalario de la Facultad de Farmacia y, desde el año 2004, en el Servicio de Experimentación Animal del Parc Científic de Barcelona.

Resumen de su actividad profesional ¿Qué personas le han ayudado o han sido sus mentores?

La persona que me enseñó casi todo al inicio fue Antonio López, un técnico del animalario de Biología a quien expreso mi más sincero agradecimiento por ello. Más adelante: América Giménez, Teresa Rodrigo y Jordi Guinea, compañeros de la Universidad de Barcelona, junto con Juan Martín Caballero, Ernesto de la Cueva y Pilar Pallarés, han sido y son personas muy importantes para seguir aprendiendo cada día. En esencia, creo que de cualquier persona de nuestro ámbito podemos aprender algo siempre,



y para ello, hemos de potenciar el intercambio de ideas y el diálogo continuo entre centros y profesionales.

¿Cuáles son los temas que más le interesan relacionados con la ciencia del animal de laboratorio?

De ámbito general : la incorporación plena de las instalaciones de experimentación animal, como un eslabón más, en la cadena de investigación. Esta incorporación tiene dos vertientes: como servicios de apoyo a la investigación y también desarrollando proyectos de investigación propios, aplicados. En ámbitos más específicos, aquellos relacionados con la obtención de imagen diagnóstica, una herramienta novedosa, potente e interesante que está siendo incorporada con fuerza en nuestras instalaciones.

¿Cuáles son sus objetivos para los próximos años?

En el Parc Científic de Barcelona, estamos construyendo un centro nuevo, mayor y más moderno. Ahora estamos diseñando espacios, distribución, circuitos de movimiento,... Así mismo seleccionamos materiales y equipos según las necesidades previstas.

¿Que consejos daría a los que ahora se inician?

No puedo transmitir la pasión que siento por mi trabajo, pero sí invitar a quienes deseen saber o aprender de esta ciencia a participar en alguno de los muchos y buenos centros que hay por todo el estado. Es sencillamente adictivo. Al principio parece una herramienta para conseguir otros objetivos y rápidamente se convierte en una meta en sí mismo, con una potencialidad de desarrollo personal y profesional magnífica.

¿Qué opinión le merece la oferta de formación presente en España?

Se está trabajando relativamente bien la formación de acceso, pero aún necesita mejorar la formación específica posterior en la que sólo hay un par de ejemplos asentados (Cursos de Criopreservación en el CIEMAT y Gestión de colonias de OMGs en el CNB). Reflexionar sobre lo que cada uno de nosotros puede aportar y esforzarnos en transmitirlo.

Cite dos profesionales a los que sería interesante poder realizar este cuestionario

Pilar Pallarés, del CNIC, en Madrid y David Solanes, del CReSA, en Barcelona.

5 VARIOS

REMA

INTRODUCCIÓN A LAS 3R: CONCEPTOS GENERALES. MÉTODOS ALTERNATIVOS
A LA EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

ARGELIA CASTAÑO CALVO

Presidenta de REMA

Miembro de ESAC.

Área de Toxicología Ambiental

Centro Nacional de Sanidad Ambiental (CNSA) I.S. Carlos III.28220 Majadahonda. Madrid.

castano@isciii.es

GUILLERMO REPETTO KUHN

Vocal de La Junta directiva de REMA

Coordinador de 3ERRES y BUSCAALTERNATIVAS.COM

Servicio de Valoración Toxicológica y Medio Ambiente.

Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Sevilla. guillermo@grepetto.com

El concepto de **alternativas** incluye todos los métodos o técnicas que pudieran sustituir o **reemplazar** los experimentos realizados con animales vertebrados, **reducir** el número de animales empleados en cada ensayo o mejorar o refinar los procedimientos ya existentes con el fin de aumentar el bienestar animal, disminuyendo el estrés y evitando el sufrimiento de los animales. Supone, por tanto, la utilización de procedimientos *complementarios* entre sí según definieron Russell y Burch en su libro “The Principles of Humane Experimental Technique” (1), donde se estableció el principio de las 3Rs.

R de reducción. Aplicando tanto estrategias secuenciales que minimicen el número de vertebrados a utilizar como realizando un correcto diseño estadístico que permita utilizar sólo el número de animales necesario para obtener una información fiable y precisa. Tan inadecuado resulta un procedimiento experimental que emplea más animales de los necesarios como el que utiliza tan pocos que sus resultados no proporcionan la calidad científica exigible y que a la larga resultan inútiles por no ser fiables.

¹*REMA: Red Española de Métodos Alternativos a la experimentación Animal.*

²*ESAC: Comité Científico Asesor del Centro Europeo de Validación de Métodos Alternativos.*

R de refinamiento. Entendido éste como cualquier procedimiento que permita disminuir la severidad del daño producido a los animales, todavía imprescindibles en muchos procedimientos. Actualmente la utilización de técnicas no invasivas, como por ejemplo la resonancia magnética, permiten eliminar o reducir el dolor, además del número de animales. Con estas técnicas cada animal actúa como su propio control, incrementando la calidad de los resultados científicos.

Finalmente, *R de reemplazo* de los vertebrados por cualquier otro método que emplee material no sensitivo. Se entiende por material no sensitivo: los modelos computacionales, los ensayos *in vitro* con modelos celulares o los ensayos con organismos menos evolucionados como microorganismos, plantas y algunos invertebrados, cuya capacidad para sentir dolor está reducida al máximo. Esta circunstancia es debida, en unos casos, a la carencia de sistema nervioso y, en otros, al menor desarrollo de sus sistemas sensoriales.

El principio de las 3R ha sido responsable, en gran parte, de las drásticas reducciones en el uso de animales de laboratorio que han tenido lugar en el último cuarto del siglo XX y de los cambios significativos en las técnicas de investigación, de ensayo y educación en beneficio de la ciencia y la salud pública, así como del bienestar animal.

Algunos de los avances más trascendentes en los últimos años se han dado en las áreas de: corrosividad ocular y cutánea, fototoxicidad y producción de anticuerpos monoclonales. Otros avances menos conocidos, pero también muy importantes, se han producido en: la valoración de productos biológicos, en metodologías de educación médica y veterinaria y en el manejo y mantenimiento de animales para fines experimentales. Quizás, uno de los más importantes logros, y desde luego un punto de inflexión en la historia de las 3Rs y los ensayos

con animales, fue la supresión en 2002 de la prueba clásica de estimación de la Dosis Letal Media (DL50) en las normativas internacionales de ensayo de productos químicos.

No obstante y en muchos aspectos, gran parte del potencial práctico de la filosofía de las 3Rs todavía está por alcanzar. El concepto de las tres Rs no ha penetrado tanto en la universidad ni en los centros de investigación básica como lo ha hecho en la industria y la toxicología (p. ej. en los ensayos regulatorios) (3-8).

En cuanto al panorama internacional, tras veinte años en vigor, se encuentra en revisión la Directiva Europea que introdujo las tres R (*Directiva 86/609/EEC.*)(2). En esta revisión se promueve con más énfasis el desarrollo y utilización de los métodos alternativos y se requiere de manera más exhaustiva la justificación de la utilización de animales en todos los ámbitos, desde la investigación básica hasta la enseñanza. Cabe añadir, dentro de este contexto internacional, que la tendencia al consenso entre los sectores implicados en el mundo del animal de experimentación es la base sobre la que se están estableciendo las posiciones nacionales y europeas en el mundo de las alternativas a los animales de laboratorio. La idea de aunar: Industria, Academia, Administración y Sociedades de protección de animales, se ha plasmado en España en una plataforma REMA (Red Española de Métodos Alternativos a la Experimentación Animal, <http://www.remanet.net>) que tiene como finalidad lograr un menor y más racional uso de los animales de experimentación, integrando y coordinando las iniciativas de la Industria, la Administración y la Sociedad con las del Mundo Científico respecto a la aplicación e implementación del principio de las 3Rs. De manera casi paralela se ha establecido en Europa una plataforma de plataformas nacionales-ECOPA (European Consensus Platform for Alternatives, ([Http://ecopa.vub.ac.be](http://ecopa.vub.ac.be))) en la que REMA participa como miembro fundador. En la actualidad, REMA, ocupa la vicepresidencia de esta asociación.

Desde un punto de vista práctico podemos estructurar la gran gama actual de procedimientos alternativos posibles en ocho apartados diferentes (Tabla 1). Para facilitar la identificación de los mismos se ha desarrollado la web <http://buscaalternativas.com>.



Tabla 1.
Clasificación de los métodos experimentales alternativos

MÉTODOS EXPERIMENTALES ALTERNATIVOS

1-	Evitar la repetición innecesaria de experimentos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>: Protocolos y estudios previos: Disponibilidad de la información, creación de bases de datos, homologación de ensayos y aceptación internacional de resultados.
2.	Modelos computarizados de Predicción: “<i>in silico</i>” - Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (QSAR) - Cinética ambiental de compuestos químicos - Fármaco-toxicocinética (PB-PK)
3.	Métodos <i>In vitro</i>: - Órganos: baños, perfusión, cultivo, cortes, órganos reconstituídos - Explantes, reagregados celulares, micromasas, cocultivos - Cultivo primario de células dispersadas - Líneas celulares / transgénesis / células madre - Sistemas libres de células
4.	Uso de organismos inferiores no protegidos: - Bacterias, hongos, protozoos, algas, plantas, animales invertebrados
5.	Vertebrados en etapas iniciales de desarrollo: - Huevos de peces, anfibios, reptiles, aves.
6.	Mejoras en el diseño de estudios con animales: - Reducción: número de animales - Refinamiento: minimización del dolor y angustia; nuevos modelos
7.	Estrategias integradas: - Integración de métodos <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> . Flexibilidad en el proceso de toma de decisiones. Juicio experto
8.	Otros: - Modelos en la enseñanza y formación: Modelos mecánicos, sistemas audiovisuales, y simulaciones por ordenador y de realidad virtual - Estudios epidemiológicos, vigilancia en humanos

**ALTERNATIVAS DE REFINA-
MIENTO Y REDUCCIÓN**

Las alternativas en reducción y refinamiento están muy relacionadas entre sí, siendo en muchos casos difíciles de separar. Mientras que la reducción se refiere a la utilización de un menor número

de animales para obtener la misma cantidad de información, en el concepto de *refinamiento* se incluye la optimización de los procedimientos y todos aquellos avances que afecten a la vida del animal de laboratorio y permitan aliviar o reducir el posible dolor. En resumen todo aquello que suponga una mejora del bienestar animal.

El primer paso en la reducción consiste en evitar la información redundante. Es necesario reconocer que se ha reducido de forma muy importante el consumo de animales simplemente evitando la repetición innecesaria de ensayos. Esto se ha debido a las mejoras en el almacenamiento, uso e intercambio de la información. Esto implica no solamente la existencia de bases de datos internacionales perfectamente actualizadas, sino también, la aceptación legal de los resultados de estudios obtenidos en otros países para los mismos propósitos utilizando protocolos armonizados, en lugar de repetir el mismo estudio con varios protocolos ligeramente diferentes, como antes se exigía por la Unión Europea, Norteamérica y Japón.

Sin embargo debiera profundizarse más tanto en la armonización de protocolos como en la disponibilidad de datos experimentales de todo tipo, ya que actualmente sólo están accesibles los estudios que han sido considerados satisfactorios, pero es casi imposible acceder a estudios que no confirmaron las hipótesis de partida de los investigadores o aquellos considerados confidenciales por las empresas que los generaron.

ALTERNATIVAS DE REEMPLAZO

TIPOS

Cada vez se emplean más procedimientos no experimentales que evitan el uso de animales, como son los *modelos computarizados de predicción o de simulación*. Por ejemplo, los modelos cuantitativos que relacionan estructura y actividad, al aprovechar correlaciones entre la estructura molecular y la actividad biológica de determinados productos, pueden predecir tanto actividades biológicas como efectos secundarios potenciales. Hay modelos para el diseño molecular de: fármacos, cosméticos, plaguicidas o productos químicos en general, de unas características definidas y específicas, o bien modelos basados en sistemas de tipo bioquímico, fisiológico, farmacológico o toxicológico. Estos procedimientos proporcionan predicciones suficientemente fiables como para que las empresas puedan seleccionar inicialmente los compuestos que más les interesen sin necesidad siquiera de sintetizarlos y de ensayarlos en animales.

Habitualmente se asocia el reemplazo de los animales con el uso de técnicas *in vitro*. Russell y Burch distinguían entre «reemplazo relativo»

(cuando se sacrifican animales para obtener sus células, tejidos u órganos destinados a un ensayo *in vitro*) y «reemplazo absoluto» si no se utiliza ninguno (1). Se denominan ensayos “*in vitro*”, en contraposición a los estudios “*in vivo*”, porque inicialmente los estudios se realizaban en recipientes de vidrio. Según su finalidad, los ensayos *in vitro* pueden ser: pruebas sustitutivas de los ensayos con animales, pruebas de criba previas a las de aquellos o con el carácter de complementarias para mejorar la sensibilidad y especificidad de los estudios con animales.

Los procedimientos *in vitro* tienen entidad propia entre los métodos experimentales y proporcionan una información más profunda sobre los mecanismos de acción que la obtenida *in vivo*. De hecho, en muchas áreas de la biomedicina, los métodos *in vitro* se utilizan más ampliamente que los modelos animales porque la información científica que proporcionan es más detallada (9-10).

Existen diversos tipos de modelos *in vitro* como: los ensayos con líneas celulares establecidas, los cultivos primarios de células, los explantes, los baños de órganos, los cultivos organotípicos etc (para más información se ruega consultar el capítulo específico de la referencia 11).

Una vez seleccionado el modelo experimental posteriormente se evalúan los efectos producidos. Determinados marcadores valoran: la viabilidad, la morfología, la reproducción celular, la actividad metabólica, la integridad de las membranas celulares y subcelulares, etc. Otros indicadores son específicos de órganos, sistemas o funciones. Es el caso de: la actividad de receptores, la síntesis y el almacenamiento o liberación de determinadas enzimas, transmisores o anticuerpos, captación de precursores, etc. En ocasiones, los indicadores se eligen atendiendo a las actividades y efectos previstos. En general y cada vez en mayor medida, los avances tecnológicos permiten cuantificar de forma sencilla y aplicar un gran abanico de bioindicadores (12-13).

VENTAJAS DE LOS ENSAYOS *IN VITRO*

En forma esquemática, las principales ventajas de los métodos de experimentación *in vitro* con respecto a los empleados *in vivo* se podrían resumir en:

- Son ética y moralmente más aceptables que los ensayos *in vivo* ya que no es necesario

usar animales vertebrados. En el peor de los casos (cultivo de órganos, explantes o cultivos primarios) en que hagan falta vertebrados se requiere un número considerablemente menor de animales, pues con fracciones de los órganos de un solo animal pueden realizarse cientos, incluso miles, de ensayos *in vitro*.

- Utilizan material biológico homogéneo. Posibilitan además el uso de: material de origen humano, de cadáveres, por biopsia en sujetos vivos o procedentes de operaciones quirúrgicas. Todo ello puede simplificar en gran medida el proceso de extrapolación de los datos obtenidos.
- Permiten estudiar las acciones sobre una determinada población celular o fracción subcelular aislada en la que se presuponga la diana principal o secundaria. Con ello se evitan las interferencias producidas por otros sistemas, órganos, células u orgánulos sobre la diana que estemos estudiando.
- Facilitan determinados estudios especializados como: los electrofisiológicos, de captación, transformación y eliminación de sustancias, etc.
- Son más fácilmente objetivables y cuantificables que los ensayos *in vivo* ya que se pueden someter directamente a medición por técnicas fisicoquímicas (espectrofotometría, etc.).
- Los resultados presentan mayor reproducibilidad que los métodos con animales, al consistir cada ensayo en unos pocos componentes con sistemas más homogéneos, en condiciones controladas y sin interferencias de otros factores como: el estrés animal, factores hormonales, nerviosos, los cambios estacionales, etc.
- Posibilitan una mayor precisión en el control directo de la dosificación, es decir, la cantidad de xenobiótico en interacción con el órgano diana, al ser factible trabajar directamente sobre ésta.
- Permiten el control absoluto de la duración del período de contacto con el producto evaluado, puesto que el compuesto puede aplicarse y retirarse a voluntad del investigador.
- Facilitan el estudio de los mecanismos de acción, diferenciando la lesión primaria de las que se desencadenan a continuación, al ser

posible interrumpir o modificar el proceso en cualquier momento. Además, reducen el período de latencia y facilitan el estudio cronológico de las acciones. Al ser modelos más simples, permiten estudiar las influencias cinéticas más fácilmente y con mayor profundidad.

- Suponen un importante ahorro de tiempo al facilitar los resultados con mayor rapidez.
- Tienen un coste económico bastante menor, y precisan instalaciones menos complejas que las exigidas legalmente para realizar estudios con animales.
- Requieren menores cantidades de los productos ensayados que los métodos *in vivo*. Esta circunstancia es particularmente importante cuando se trata de sustancias recién sintetizadas o en periodo de prueba o cuando se evalúan vertidos o residuos.

LIMITACIONES DE LOS ENSAYOS *IN VITRO*

En contraposición a lo antes expuesto, los métodos de experimentación *in vitro* presentan una serie de inconvenientes:

- La necesidad de utilizar más de un sistema de ensayo. Es decir, la alternativa a los métodos que emplean animales suelen ser baterías de ensayos *in vitro* que combinan varios sustratos biológicos e indicados.
- La carencia de las complejas interacciones existentes entre los distintos órganos de un ser íntegro, además de las dificultades encontradas para reproducir la arquitectura tisular tridimensional de los organismos superiores.
- La generalmente limitada duración de la actividad fisiológica, fundamentalmente de las células especializadas, y con ello las dificultades existentes para detectar efectos retardados o crónicos. Además, suelen ser modelos relativamente estáticos.
- La ausencia, en la mayoría de los modelos, de ciertos fenómenos cinéticos como la capacidad de activar y detoxificar compuestos químicos.
- Las dificultades para aplicar sustancias poco solubles, volátiles, gaseosas o que se descomponen rápidamente o explotan en contacto con el medio de cultivo.

- La posibilidad de obtener resultados erróneos debidos al ensayo en condiciones no adecuadas o cuando el compuesto las modifica por sí mismo (cambios de pH, osmolaridad).
- La complejidad de la extrapolación, sobre todo cuando no se dispone de información sobre las concentraciones que producen efectos in vivo.

VALIDACIÓN DE MÉTODOS

La validación de métodos alternativos es el proceso mediante el cual se establece la relevancia y la fiabilidad de un método para un determinado fin (14). La validación incluye una serie de conceptos básicos:

- Reproducibilidad: Repetibilidad de los resultados entre diferentes laboratorios y en el tiempo
- Relevancia: validez científica y utilidad práctica
- Propósito (fin): aplicación que se pretende dar al procedimiento o método.

Los procedimientos de validación son de reciente desarrollo, poco más de 10 años, y cabría destacar claramente la diferencia entre la validación científica y su posterior aceptación con fines regulatorios.

La validación científica o evaluación del método, consiste en realizar un análisis científico minucioso para comprobar su relevancia y fiabilidad teniendo en cuenta una serie de principios básicos:

- Un método sólo puede ser válido si es reproducible y relevante
- Debe definirse un modelo predictivo
- Los criterios de funcionamiento deben definirse con antelación a la validación
- Los estudios deben realizarse con compuestos codificados.
- Debe asegurarse la independencia en:
 - La dirección del estudio
 - La selección, codificado y distribución de los compuestos.
 - La recogida de los datos y el análisis estadístico
- Los procedimientos de laboratorio preferiblemente deben cumplir las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) y Buenas Prácticas de Cultivo Celular (GCCP) (15)

Inicialmente se identificaron 5 etapas en la validación de los métodos de ensayo: Desarrollo, Prevalidación, Validación, Evaluación Independiente y Aceptación Regulatoria (16-18). Estas cinco etapas forman lo que se conoce como proceso de validación prospectiva que se aplica al desarrollo de nuevos ensayos

ECVAM ha propuesto recientemente la adopción de un **sistema modular** que permitirá añadir flexibilidad al proceso de validación (19). En este sistema se han identificado 7 módulos independientes: (*definición del método de ensayo, variabilidad intra laboratorio, transferencia del método, variabilidad inter laboratorio, capacidad de predicción, dominio de aplicación, patrones de cumplimiento*) que permiten obtener la información necesaria para poder establecer la validez científica de un método de ensayo antes de proceder a su evaluación independiente y posterior aceptación regulatoria. La información puede obtenerse de modo prospectivo, retrospectivo o mediante una combinación de los dos. En muchos casos, puede ser necesario realizar estudios de laboratorio para completar la información de alguno de los módulos. Una de las ventajas de este modelo es que un método previamente validado puede ser reevaluado con respecto a uno o varios módulos en momentos diferentes de acuerdo a los avances tecnológicos. Esta práctica evita la reevaluación total del método y, obviamente, acelera el proceso. No obstante, actualmente se están editando guías para ayudar a la aplicación de este modelo.

ORGANISMOS IMPLICADOS EN LA VALIDACIÓN Y ACEPTACIÓN: ARMONIZACIÓN

En la Unión Europea, la coordinación del desarrollo de nuevos ensayos en general y la puesta al día de los existentes, actualmente, corresponde a la Oficina Europea de los Productos Químicos (European Chemicals Bureau, ECB) con sede en Ispra (Italia). En un futuro inmediato es previsible que esta responsabilidad pase a la recién creada Agencia Europea de Productos Químicos con sede en Helsinki.

El Centro de Validación de Métodos Alternativos (ECVAM, <http://ecvam.jrc.it/index.htm>) situado también en el Centro Común Europeo de Investigación en Ispra (Italia) se creó en octubre de 1991 a raíz de una comunicación de la Comisión Europea al Congreso y al Parlamento Europeo como respuesta a la *Directiva 86/609/EEC*. Una de

las tareas principales de ECVAM es la de coordinar en el ámbito europeo la validación de métodos alternativos y ha establecido en los últimos 12 años en colaboración con expertos internacionales, las líneas guía para la validación y aceptación de los métodos alternativos con ámbito de aplicación en diferentes campos de las Ciencias Biomédicas. ECVAM se encarga también de actuar como punto de intercambio de información sobre el desarrollo de nuevos métodos y de mantener una base de datos sobre procedimientos alternativos. También tiene a su cargo promover el diálogo entre: legisladores, industrias, científicos, y organizaciones de consumidores y proteccionistas. Todo ello persigue: facilitar el desarrollo, validación y reconocimiento internacional de los métodos alternativos. Su actividad en la última década del siglo XX, ha supuesto el liderazgo europeo en la promoción de la validación de nuevos métodos (20).

El centro norteamericano de validación, denominado Comité Coordinador Interagencias para la Validación de Métodos Alternativos (ICCVAM) ha centrado su actividad en revisar los resultados de estudios de validación patrocinados por otras instituciones, ya que el Programa Nacional de Toxicología no ha aportado fondos para la validación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Russell WMS, Burch RL. *The principles of human ex-perimental technique*. Londres: Methuen, 1959.
2. Directiva 86/609/CEE del Consejo, de 24 de noviembre de 1986, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. OJEC L358, 1-29
3. Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. BOE 252: 34367-34391, 21-10-2005
4. LEY 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. BOE 268, 8 Noviembre de 2007
5. Repetto M y Repetto G. *Toxicología Fundamental*, 4ª Edición, Ed Díaz de Santos, Madrid 2008
6. Festing MFW, Overend P, Gaines Das R, Cortina Borja M, Berdoy M. *The Design of Animal Experiments: Reducing the Use of Animals in Research Through Better Experimental Design*. London: Royal Society of Medicine Press Limited. 2002.
7. Combes R, Balls M. Intelligent Testing Strategies for Chemicals Testing – A Case of More Haste, Less Speed?. *Altern to Lab Animal* 2005; 33: 289-297
8. Eisenbrand G, Pool-Zobel B, Baker V, Balls M, Blaauboer BJ, Boobis A, Carere A, Kevekordes S, Lhuguenot JC, Pieters, Kleiner J. Methods of in vitro toxicology. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 40: 193–236.
9. Castaño A, Bols N, Braunbeck T, Dierickx P, Halder M, Isomaa B, Kawahara K., Lee L. E. J, Mothersill C, Pärt P, Repetto G, Riego J, Rufli H, Smith R, Wood C, Segner H. The Use of Fish Cells in Ecotoxicology. ECVAM Workshop report 47. *Altern to Lab Animal*. 2003; 31: 317-364
10. Repetto G. Estudios toxicológicos experimentales. Evaluación de Riesgos específicos. Regulaciones aplicables. En: M. Repetto ed. *Toxicología de Postgrado*. Sevilla: Area de Toxicología. Universidad de Sevilla. CD-ROM, 2006.
11. Castaño A y Repetto G. “Métodos alternativos. Generalidades”. Capítulo 25. En: Zúñiga J.M., Tur Marí J.A. y Orellana J.M., Eds. *Ciencia y Tecnología en Protección y Experimentación Animal. Formación avanzada para la Categoría C*. MacGraw-Hill. 2008
12. Novillo, A., Ekwall, B., Castaño, A. (2001). “Protein precipitation in vitro as a measure of chemical induced cytotoxicity: an EDIT sub-programme”. *ATLA* 29, 309-324
13. Bhogal N, Grindon C, Combes R, Balls M Toxicity Testing: Creating a Revolution Based on New Technologies. *Trends in Biotechnology* 2005; 23: 299-307.

14. Balls, M., Blaauboer, B., Brusick, D., Frazier, J., Lamb, D., Pemberton, M., Reinhardt, C., Roberfroid, M., Rosenkranz, H., Schmid, B. Report and recommendations of the CA-AT/ERGATT workshop on the validation of toxicity test procedures. *Altern to Lab Animal* 18: 313-337.
15. Coecke, S., Balls, M., Bowe, G., Davis, J., Gstraunthaler, G., Hartung, T., Hay, R., Merten, O.W., Price, A., Schechtman, L. Guidance on good cell culture practice. *Altern to Lab Animal* 2005 3:261-287.
16. Balls M, Blaauboer BJ, Fentem JH, Bruner L, Combes RD, Ekwall B, Fielder RJ, Guillouzo A, Lewis RW, Lowel DP, Reinhardt CA, Repetto G, Sladowski D, Spielman H, Zucco F. Practical aspects of the validation of toxicity tests procedures. The report and recommendations of ECVAM Workshop 5. *Altern to Lab Anim* 1995; 23: 129-147.
17. Repetto G, del Peso A, Salguero M, Repetto M. Inventory of the Spanish Institutions and Scientists Involved in Alternatives to the use of Laboratory Animals (Refinement, Reduction or Replacement) *Revista de Toxicología* 1999; 16: 50-127, [Http://tox.umh.es/aetox/grupos/gtema/](http://tox.umh.es/aetox/grupos/gtema/)
18. Balls M, Combes R. The OECD health effects test guidelines: a challenge to the sincerity of commitment to the three rs. *Altern to Lab Animal*. 2006; 34:105-108
19. Hartung, T., Bremer, S., Casati, S., Coecke, S., Corvi, R., Fortaner, S., Gribaldo, L., Halder, M., Hoffmann, S., Janusch Roi, A. A modular approach to the ECVAM principles on test validity. *Altern to Lab Animal*. 2004. 32:467-472.
20. Combes B Europe goes alternative. What's all the fuss about?. *Altern to Lab Animal* 2005; 33: 549-552.

