



REVISTA DE LABORATORIO ANIMALES

GRANDES ESPECIES

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

1 NOTICIAS DE SECAL

- RESUMEN DE LA REUNIÓN DE LA JUNTA DE GOBIERNO DE 28 DE ENERO

2 ARTÍCULOS

- BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN LA ESPECIE PORCINA
- TRABAJO CON GRANDES ANIMALES EN UN ANIMALARIO DE INVESTIGACIÓN NCB3
- LA BIOLOGÍA REPRODUCTIVA EN LA GESTIÓN DE ANIMALARIOS

3 ÉTICA Y LEGISLACIÓN

- VI ENCUESTO DE LOS CEUE
- BIENESTAR ANIMAL EN LOS MATADEROS

4 TÉCNICAS

- METODOS DE RESTRICCIÓN UTILIZADOS EN PRIMATES

5 PRESIÓN POSITIVA

- IMPORTANCIA DE LA ESTANDARIZACIÓN GENÉTICA EN LOS ROEDORES DE LABORATORIO

6 ¿Y TÚ QUÉ OPINAS?

- ALIMENTAR CACHORROS CON FISURA PALATINA COMPLETA

7 PAGINAS WEB

- INTERNATIONAL VETERINARY INFORMATION SERVICE

8 SEGURIDAD EN 5 MINUTOS

- MANIPULACIÓN MANUAL DE CARGAS

9 ENTREVISTAS

- PILAR BRINGAS DE LA LASTRA
- JORGE SZTEIN



MIEMBRO DE FELASA E ICLAS

GRUPO EDITOR

DIRECTORA

Joana Visa
jvisa@idibell.org

SUBDIRECTORA

Dolores García Olmo

RESPONSABLES SECCIONES

Jose Luis Martín Barrasa
Jesús Martínez Palacio
M^o Granada Picazo Martínez
Isabel Clara Rollán Delgado
Hernán Serna Duque

CORRECCIÓN DE ESTILO

Joana Esteve
Dolores García Olmo

PUBLICIDAD

Jesús Martínez Palacio

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

¿CÓMO ALOJAR Y MANEJAR CERDOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE?

La Comisión y el Consejo Europeos publican, de manera periódica, informes relacionados con el uso de animales para fines científicos y docencia. Sin embargo, si se necesita realizar comparaciones de uso entre los diferentes años, es necesario tener en cuenta que, por ejemplo, los datos de 2002 hacen referencia a la “Europa de los 14”, y los del año 2005 a la “Europa de los 24”. El último informe publicado ha sido con datos de 2005 (“Fifth Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the Statistics on the number of animals used for experimental and other scientific purposes in the member states of the European Union”).

En este tipo de informes, la mayoría de lo que comúnmente conocemos como grandes animales se incluyen dentro del grupo de los Artio y Perissodactyla: équidos, cerdos, cabras, ovejas y terneros. Si comparamos datos entre el año 2002 y 2005, podemos concluir que el uso de animales de todas las especies para fines científicos y formación se incrementó en un 3%, básicamente por el aumento en el uso de roedores, aunque también hay que tener en cuenta que se ha ampliado el número de miembros de la UE. Sin embargo, el número absoluto de animales de grandes especies utilizados el año 2005, disminuyó entre un 7% y un 30%, según la especie. Los terneros son la excepción puesto que se ha incrementado su uso, básicamente debido a la aportación de los nuevos estados miembros (estudios de producción y mejora de la cría).

Aunque el valor absoluto de animales usados se haya incrementado y el número absoluto de grandes especies haya disminuido, estas variaciones no han producido ningún cambio en la proporción de utilización de grandes animales, ya que desde el año 1999 se ha mantenido que el 1% de todos los animales utilizados son équidos, cerdos, cabras, ovejas o terneros (unos 130.000 animales en 2005).

Como media de todos los estados miembros, la mitad del número de animales de estas especies se ha utilizado en estudios de biología fundamental, así como en ensayos de control de calidad de productos en medicina humana y veterinaria. En España (datos de 2005), de los 60.000 animales utilizados 6.094 fueron équidos, cerdos, cabras, ovejas o terneros, por lo que se mantiene la proporción como la media europea: 1% del total. Cabe destacar que más del 70% corresponde a cerdos. Aproximadamente, una tercera parte de ellos se emplean en estudios de toxicidad o seguridad, y una cuarta parte en formación.

La generación de animales modificados genéticamente ha sido muy exitosa en el ratón, y significativamente más difícil en especies de mayor tamaño. Recientemente, el uso de células fetales o adultas para la producción de animales genéticamente idénticos a partir de la transferencia nuclear, ha permitido la clonación de diferentes especies: ovejas (1996) terneros (1998), cabras (1999) o cerdos (2000). También se han generado animales por “gen targeting”: cerdos con el gen 1,3 galactosiltransferasa anulado (“knockout”). Este gen está relacionado con el proceso de rechazo en trasplante de órganos, por lo que la generación de este tipo de animales abre la posibilidad de xenotrasplante de cerdo a la especie humana.

>> sigue en pag siguiente

**JUNTA DE GOBIERNO
DE LA SECAL**
PRESIDENCIA:

 Dña. Patri Vergara Esteras
(2005-2009)*

VICEPRESIDENCIA:

 D. Manuel Moreno Calle
(2007-2011)*

SECRETARÍA:

 Dña. Marta Giral Pérez
(2005-2009)*

VICESECRETARÍA:

 Dña. Dolores García Olmo
(2007-2011)*

TESORERÍA:

 D. José María Garrido Gutiérrez
(2005-2009)*

VICETESORERÍA:

 D. Jesús Martínez Palacio
(2007-2011)*

VOCALÍAS:

 D. Carlos Costela Villodres
(2005-2009)*

 Dña. Silvia Gómez Fernández
(2005-2009)*

 Dña. Rosario Moyano Salvago
(2005-2009)*

 Dña. Inmaculada Noguera Salvá
(2007-2011)*

 Dña. Teresa Rodrigo Calduch
(2007-2011)*

 D. Hernán Serna Duque
(2007-2011)*

 Dña. Joana Visa Esteve
(2007-2011)*

*Entre paréntesis figura el período de permanencia en la Junta de Gobierno.

SOC. BENEFACTORES:

ANADE

ANTONIO MATACHANA S.A.

BIONOSTRA S.L.U.

BIOSIS S.L.

CENTRE D'ELEVAGE JANVIER

CHARLES RIVER LABORATORIES

DINOX S.L.

EBECO

EHRET GmbH&Co.KG

GLAXO SMITHKLINE

GRANJAS S. BERNARDO

HARLAN LABORATORIES MODELS

NORAY BIOINFORMATICS, S.L.U.

PANLAB S.L.

PROLABOR

RENTOKIL

SOURALIT

STERILTECH, S.L.

STERIS

VESTILAB S.A.

VISUAL DIAGNOSTICS

En este sentido, el grupo de J. Gadea y cols., nos presenta en este Número una valiosa revisión sobre la utilidad de los modelos en porcino y, especialmente, sobre los últimos avances en biotecnología de la reproducción de esta especie.

Aquellos centros que dispongan de animales genéticamente modificados (cerdos, por ejemplo) han de cumplir la ley 178/2004 ("Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente"), y notificar su uso. Para poder cumplir con la ley es necesario disponer de las instalaciones adecuadas que permitan confinar a este tipo de animales y proteger a las personas que trabajan con ellos y al medio ambiente. Por otra parte, es necesario adaptar el cuidado y manejo de este tipo de animales a las nuevas necesidades tecnológicas que permita realizar una investigación de calidad.

Una buena fuente de información relacionada con el uso de estas especies es la guía para el uso y cuidado de las grandes especies ("Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching", publicada por "The Federation of Animal Science Societies" (FASS, 1999). Este manual está estructurado en dos partes: los primeros capítulos abarcan temas generales, tales como: política institucional (incluyendo recomendaciones relacionadas con la actividad de los comités éticos), aspectos generales para el cuidado de los animales o diseño de instalaciones. La segunda parte está centrada en las características concretas para cada especie: ternero, caballo, pollo, oveja o cerdo. Es un libro completo y útil.





Noticias de la SECAL

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

28 DE ENERO DE 2009

El pasado 28 de enero, la Junta de Gobierno de la SECAL celebró una reunión por teleconferencia, en la que se trataron los siguientes asuntos:

- **Comentarios a la propuesta de nueva Directiva sobre protección de animales utilizados con fines científicos:** tras la publicación de esta propuesta, el 5 de noviembre de 2008, diversas entidades y sociedades, entre las que se incluyen SECAL y FELASA, han elaborado sus respectivos documentos con comentarios y correcciones a este texto. Tal como se apuntó en otras reuniones, se estima que la nueva Directiva entre en vigor en un plazo de 2-4 años.

- **Discusión de documentos y propuestas de FELASA:** se valoraron los distintos grupos de trabajo que están iniciándose y se aprobó la designación de un representante de la SECAL para cada uno de ellos. Así, se propusieron las siguientes personas:

- * Grupo de trabajo sobre signos clínicos: Yolanda Saavedra.
- * Grupo de trabajo sobre formación de estudiantes de disciplinas biomédicas: Rosario Moyano.
- * Grupo de trabajo sobre severidad de procedimientos: Xavier Manteca.
- * Grupo de trabajo de “Statistical Reporting”: José María Orellana.

Asimismo, se aprobó la nominación de Timo Nevalainen para sustituir a un miembro que fue ba-

ja en el “Accreditation Board Training and Education LAS”. Por otra parte, se aprobaron los “términos de referencia” del Grupo de Trabajo denominado “Health Monitoring”, cuyo objetivo principal es realizar una revisión y actualización de las recomendaciones sobre controles sanitarios. Por otra parte, se informó de que ECLAM ha elaborado un documento en el que se solicita la comunicación de efectos adversos producidos por fármacos de uso veterinario, documento que estará disponible en la web de la SECAL.

- **Libro sobre “Ciencia y Tecnología del Animal de Laboratorio”:** en esta reunión, se ultimó el procedimiento de distribución de esta nueva publicación de la SECAL, procedimiento que ya ha sido difundido entre los socios por diversos medios.

- **X Congreso de la SECAL, Salamanca 2009:** Luis Muñoz informó a la Junta de las últimas gestiones para la organización de este evento. Entre ellas, se confirma la realización de un taller sobre congelación rápida la víspera de su inauguración. Todas las novedades se irán incorporando a la página web propia del Congreso: <http://fundacion.usal.es/secal2009>. Asimismo, se comenzaron a barajar ya posibles opciones para el XI Congreso.

La próxima reunión de la Junta de Gobierno será presencial, el próximo 26 de marzo, en Barcelona.

2 ARTÍCULOS

BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN LA ESPECIE PORCINA

Joaquín Gadea

Francisco A. García-Vázquez

Carmen Matás

Raquel Romar

Salvador Ruiz

Pilar Coy

Dpto. Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia

IMPORTANCIA DE LOS CERDOS COMO MODELO EXPERIMENTAL

Los roedores, y en especial el ratón, son el modelo animal más empleado en todo el mundo para investigación biomédica, debido a su tamaño pequeño, fácil manejo, reducido coste de adquisición y mantenimiento, corto intervalo entre generaciones, posibilidad de obtener ratones transgénicos con relativa facilidad técnica, etc.

Sin embargo, en numerosos trabajos de investigación es necesario complementar los estudios con experiencias desarrolladas en animales mayores, entre los que se encuentran el perro, el gato, la oveja, el cerdo y los primates no humanos. En este sentido, la especie porcina es un buen modelo para el estudio de la fisiología humana. En algunos casos, es un modelo mejor que los pequeños roedores, ya que el tamaño de estos últimos es demasiado reducido para medir los pequeños cambios que se producen en los parámetros fisiológicos. Igualmente, los cerdos son buenos modelos de ciertas enfermedades humanas debido a que su sistema cardiovascular, digestivo e inmune, o su piel son anatómica y fisiológicamente más similares al humano que los

roedores u otros modelos de animales mayores.

Los modelos porcinos tienen una importancia creciente en todas las ramas de las ciencias biomédicas, y en los próximos años, con el desarrollo de la tecnología para producir cerdos transgénicos, podremos disponer de un gran número de modelos porcinos de enfermedades humanas, de forma similar a como ahora están disponibles para la comunidad científica miles de modelos murinos transgénicos.

BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

El uso del cerdo como animal de experimentación se ha visto favorecido por el importante desarrollo que se ha producido en los últimos años en el campo de la biotecnología de la reproducción de esta especie. En este documento pretendemos revisar los aspectos más relevantes del estado actual de la biotecnología reproductiva y aportar la experiencia de nuestro grupo de investigación en el desarrollo de alguna de estas técnicas a lo largo de los últimos 20 años. Agruparemos los avances que se han producido en diferentes apartados, que iremos desarrollando de forma breve, pues cada uno de ellos, necesitaría una atención específica.

PRESERVACIÓN DE LOS GAME-TOS MASCULINOS

Actualmente, se consigue una conservación del semen refrigerado porcino a 15°C de hasta 7 días con diluyentes denominados de larga duración (Johnson *et al.*, 2000; Gadea, 2003). Estas condiciones permitirían el intercambio de gametos masculinos entre centros de todas las partes del mundo y su aplicación se realiza con catéteres de inseminación artificial (IA) de igual manera que se realiza en condiciones comerciales.

Por otra parte, se pueden conservar los espermatozoides porcinos en congelación, mediante un proceso relativamente sencillo y con un equipamiento accesible a la mayoría de los animalarios. El uso de semen congelado puede aportar ciertas ventajas sobre el semen refrigerado, como son (Gadea, 2004):

- El intercambio de material genético a larga distancia y durante un periodo muy largo (años). Este periodo de tiempo puede ser crucial para efectuar un control sanitario o genético del semen/verraco antes de su uso. Eso es posible hoy con el diagnóstico de enfermedades infecciosas basado en el estudio de la presencia de ADN del agente infeccioso, mediante técnicas de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y además, el desarrollo de marcadores genéticos, etc.
- La creación de bancos genéticos. De evidente interés para la conservación de líneas o estirpes de especial interés.
- La introducción de material genético de alto valor sin los riesgos derivados de la incorporación de nuevos animales.

La reducción en el rendimiento reproductivo ha sido el gran limitante del uso del semen congelado (Johnson, 1985; Waberski *et al.*, 1994). La fertilidad que puede obtenerse con estos espermatozoides criopreservados está muy influida por la variabilidad individual. Sin embargo, en los últimos años se ha realizado un gran esfuerzo para mejorar la fertilidad del semen congelado en inseminación artificial obteniéndose resultados a nivel experimental muy prometedores, que suponen tasas de partos por encima del 70% y para algunos machos por encima del 80% (Thilmant, 1998; Eriksson *et al.*, 2002; Sellés *et al.*, 2003; Roca *et al.*, 2003; Bolarin *et al.*, 2006).

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

En la aplicación de las técnicas de IA porcina se han realizado numerosos e importantes avances, lo que ha permitido alcanzar una amplia difusión en las explotaciones con unos resultados equiparables o superiores a los obtenidos con la monta natural (Colenbrander *et al.*, 1993). Las tasas de fertilidad obtenidas con el uso de la inseminación artificial superan el 85%.

La IA como técnica reproductiva aporta una serie de ventajas, entre las que se encuentran las siguientes (Gadea, 2004):

- La amplia difusión del material genético del verraco seleccionado que permite inseminar un mayor número de hembras.
- Mejoras sanitarias, al evitar el contacto directo macho-hembras, por lo que se impide la transmisión de enfermedades por vía venérea y por contacto.
- Evaluación continua de la producción y de la calidad espermática lo que permite monitorizar la fertilidad de los verracos a lo largo del tiempo productivo.
- Mejora del control de los resultados reproductivos.
- La reducción en el número de verracos por hembra, con la consiguiente reducción en costes de adquisición, alojamiento, alimentación, etc.

En lo que a la inseminación artificial se refiere, además de las técnicas clásicas de inseminación con deposición a nivel cervical, en los últimos años se han desarrollado catéteres de inseminación intrauterina profunda y post-cervical (Martínez *et al.*, 2001; Watson y Behan, 2002). Estos son unos catéteres que permiten superar el cérvix uterino y depositar la dosis seminal en el cuerpo del útero o en el interior de uno de los cuernos uterinos. La gran ventaja que aportan estas nuevas técnicas es la posibilidad de inseminar con un número menor de espermatozoides con unos rendimientos reproductivos equivalentes.

Por último cabe describir el uso de la inseminación a nivel oviductal, que puede realizarse tanto con abordaje quirúrgico laparoscópico como laparotómico y que permite depositar un número muy reducido de espermatozoides (Fantinati *et al.*, 2005; García *et al.*, 2007).

NUEVAS TÉCNICAS DE ANÁLISIS SEMINAL

Mucho se ha avanzado en las últimas décadas en el campo de la evaluación de la calidad seminal y sobre el valor predictivo de la fertilidad que presentan las pruebas de análisis espermático. Sin embargo, es una tarea aún no resuelta. En este sentido, la calidad del eyaculado ha sido tradicionalmente evaluada con el espermograma clásico, basado en la aplicación de una serie de pruebas de una ejecución relativamente simple y que pueden ser realizadas con un coste moderado (Gadea, 2005). En el análisis rutinario se incluye un examen macroscópico y microscópico del eyaculado en los que se mide el volumen, la concentración, la motilidad, el estado del acrosoma y las morfoanomalías espermáticas.

En el trabajo diario se detectan animales que tienen una fertilidad reducida pero que, al realizar un análisis de rutina, presentan un espermograma normal. Por ello, podemos deducir que ninguno de los parámetros del espermograma clásico parece ser suficiente, por sí solo, para predecir adecuadamente la fertilidad, aunque la información combinada de todos ellos ofrece una buena estimación de la calidad seminal (Woelders, 1991).

Para dar una solución a este problema se han desarrollado nuevas técnicas que pretenden alcanzar un mejor conocimiento de la célula espermática (Gadea, 2005; Silva y Gadella, 2006; Rodríguez-Martínez y Barth, 2007). Con este objetivo se puede evaluar la estructura y funcionalidad del espermatozoide. Entre estas nuevas técnicas, el estudio de la membrana parece ser un buen procedimiento para evaluar la funcionalidad del gameto masculino, ya que ésta interviene activamente en la mayoría de las fases del proceso reproductivo. La membrana puede ser estudiada desde el punto de vista estructural mediante la utilización de tinciones, o bien valorando su funcionalidad, para lo que se ha aplicado y distintas técnicas con fluorocromos que permiten evaluar otros aspectos de la funcionalidad espermática, como son los procesos de capacitación espermática y reacción acrosómica, la actividad mitocondrial, la permeabilidad de membrana, la estructura y estabilidad del núcleo y la cromatina, etc. (Harrison y Vickers, 1990; Garner y Johnson, 1995; Silva y Gadella, 2006).

CONSERVACIÓN DE EMBRIONES

La posibilidad de congelar y almacenar embriones porcinos permitiría guardar, en condiciones de seguridad, material genético de alto valor y el intercambio internacional. Siguiendo las recomendaciones de la “International Embryo Transfer Society” (IETS), los embriones deben ser lavados y criopreservados con la zona pelúcida para evitar la transmisión de virus y bacterias.

Los embriones porcinos son muy sensibles al choque térmico, en parte debido a la presencia de gran cantidad de lípidos en su citoplasma, por lo que el rendimiento de los sistemas de congelación convencional es muy poco eficiente. Por el contrario, la aplicación de técnicas de congelación ultrarrápida (vitrificación) permite conservar la viabilidad del embrión y producir descendencia viable (Cuello *et al.*, 2005; Martinat-Botté *et al.*, 2006; Cameron *et al.*, 2006). Esta técnica está en desarrollo actualmente y, día a día, se mejoran los rendimientos como consecuencia de las mejoras metodológicas. En un futuro próximo será posible almacenar con seguridad estos embriones.

FECUNDACIÓN IN VITRO E ICSI

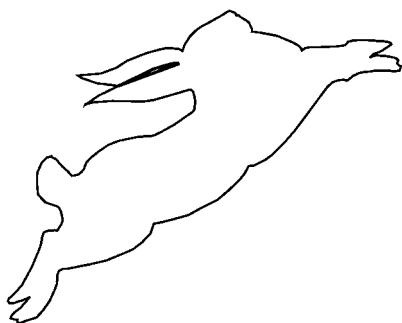
La fecundación in vitro (FIV) en el cerdo, continúa siendo una técnica de bajo rendimiento y, pese a la disponibilidad ilimitada de ovocitos a partir de ovarios de matadero, al excelente rendimiento del sistema de maduración in vitro (MIV; Coy *et al.*, 1999; Coy *et al.*, 2005), o al gran avance experimentado en el desarrollo de los sistemas de capacitación espermática in vitro (Matás *et al.*, 2003), los porcentajes de cigotos viables, susceptibles de dar lugar a embriones con posibilidades de sobrevivir en un útero materno, siguen siendo escasos (en torno a un 15%). Las principales razones de este escaso rendimiento de la técnica de FIV convencional son i) el elevado porcentaje de polispermia que se obtiene (penetración en un mismo ovocito de más de un espermatozoide, lo que produce la muerte prematura del embrión) y ii) la inadecuada formulación de los medios de cultivo para la FIV y primeros días de desarrollo embrionario. Sin embargo, con la nueva información que se está generando a través de la investigación básica, en cuanto al estudio detallado de la composición de los fluidos fisiológicos donde tienen lugar estos eventos en condiciones naturales (Carrasco *et al.*, 2008; Coy *et al.*, 2008), es muy probable que en los próximos años se solucionen estos

problemas y el rendimiento de la FIV aumente espectacularmente.

Mientras tanto, una posible alternativa para evitar al menos el problema de la polispermia es el uso de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). La ICSI es una técnica de fecundación *in vitro* que consiste en la introducción de un único espermatozoide en el interior del citoplasma de un ovocito maduro con la ayuda de un micromanipulador, evitando el proceso de unión del espermatozoide a la zona pelúcida. Esta técnica nos permite investigar acerca de aspectos fundamentales del proceso de fecundación, como la interacción con el espermatozoide en el interior del ovocito, y aspectos relacionados con el desarrollo embrionario temprano (Rho *et al.*, 1998). Pero, sobre todo, representa un valioso potencial en los programas de recuperación de alto valor genético, donde el número de gametos disponibles se encuentra limitado (Iritani *et al.*, 1998).

La ICSI en la especie porcina esta experimentando un gran desarrollo como técnica. De este modo, en los últimos años su utilidad se ha visto incrementada en la producción de animales de granja de un sexo determinado (Probst y Rath, 2003) y en la producción de animales modificados genéticamente (García-Vazquez *et al.* 2008).

A pesar del desarrollo tecnológico de esta técnica en los últimos años, la obtención de lechones viables mediante este método de fecundación es todavía baja y solo un número muy reducido de grupos de investigación han obtenido nacimiento de lechones vivos (revisado por García-Roselló *et al.* 2009).



TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

La transferencia de embriones a hembras receptoras puede hacerse de manera quirúrgica, depositando un número considerable de embriones (50-100) por cerda receptora, a nivel del oviducto o cuerpo uterino. En los últimos años se ha estudiado el empleo de catéteres de deposición uterina similares a los descritos anteriormente para la inseminación artificial que permiten una transferencia no quirúrgica (Martínez *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos son muy prometedores con porcentajes de gestación del 70% para embriones frescos.

El desarrollo de esta técnica relativamente sencilla sería fundamental para la aplicación de los embriones obtenidos por fecundación *in vitro* o criopreservados. En cualquier caso es importante tener en consideración la relación de las tasas de gestación obtenidos con la calidad de los embriones transferidos y la sincronía entre la edad embrionaria y la fase del ciclo estral de la cerda receptora.

TRANSGÉNESIS

La posibilidad de conocer y manejar el material genético, ha abierto una nueva era en el conocimiento biológico y sus aplicaciones para el beneficio de la humanidad. En especial, la posibilidad de crear animales transgénicos portadores de ADN exógeno que codifica un carácter de nuestro interés, o anula algún carácter indeseable, puede tener una gran repercusión en la producción animal y en el desarrollo biotecnológico. La aplicación de esta tecnología permite, no sólo la obtención de la producción deseada más rápidamente que por la clásica selección natural, sino también trasladar genes de una especie a otra, es decir generar un producto propio de otra especie.

En lo que a la especie porcina se refiere, en el año 1985, dos equipos de investigación en Estados Unidos y Alemania publicaron por primera vez la generación de cerdos transgénicos mediante el empleo de técnicas de inyección pronuclear (Hammer *et al.*, 1985; Brem *et al.*, 1985). Desde entonces hasta nuestros días, se ha producido un gran avance en la generación de animales transgénicos con el desarrollo de nuevas técnicas y metodologías, como el uso de vectores virales, de los espermatozoides como mediadores de la transferencia genética (SMGT) y

la clonación de las células somáticas. Este desarrollo tecnológico ha permitido superar en parte las limitaciones que presenta la inyección pronuclear (revisado por Robl *et al.*, 2007; Niemann *et al.*, 2007; Bacci, 2007).

En el ámbito biomédico, los cerdos transgénicos se han diseñado y utilizado con diversos objetivos: a) estudiar determinadas enfermedades humanas; b) producir biofármacos en la leche o en otros fluidos corporales; y c) la generación de cerdos que puedan ser utilizados como donantes de órganos que puedan ser transplantados a los humanos (xenotransplantes), sin que se produzca rechazo.

Entre el uso de los cerdos transgénicos como biomodelos de enfermedad humana destacan, entre otros, los trabajos para generar un modelo porcino de la retinitis pigmentosa (Peters *et al.*, 1997) y fibrosis quística (Roger *et al.*, 2008). Asimismo, para estudiar el sistema cardiovascular se han producido cerdos mini-pig que sobre-expresan la enzima óxido nítrico sintetasa en las células endoteliales (Hao *et al.*, 2006). En los próximos años veremos un gran número de modelos de enfermedad, tal y como ahora están disponibles para la comunidad científica miles de modelos murinos transgénicos.

También se han producido cerdos transgénicos que producen en su leche proteínas humanas que podrían ser de utilidad terapéutica como es el caso de la Proteína C o los factores VIII y IX de la coagulación (Velandar *et al.*, 1992; Paleyanda *et al.*, 1997; Van Cott *et al.*, 1999). Por otra parte se han conseguido cerdos que producen hemoglobina humana (Swanson *et al.*, 1992; O'Donnell *et al.*, 1993). Pero sin duda, el uso de los cerdos transgénicos como potenciales donantes de órganos que pudieran ser transplantados en los humanos (xenotransplantes) es la principal aplicación de esta tecnología en el ámbito biomédico. La importancia de esta aplicación se basa en la demanda creciente de transplantados de órganos que no puede ser atendida adecuadamente con los alotransplantes (Deschamps *et al.*, 2005).

Nuestra experiencia se centra en la producción de cerdos transgénicos mediante el uso que presentan los espermatozoides de captar y transportar ADN exógeno (Lavitrano *et al.*, 2002). Mediante la utilización de espermatozoides incubados en presencia de ADN y, posteriormente, usando los espermatozoides que se han unido al ADN en un sistema ICSI (García Vázquez *et al.*, 2008). Para favorecer el proceso de transgénesis activa se utiliza una recombinasa RecA que protege la estructura del ADN e incrementa sustancialmente el rendimiento de la técnica (García Vázquez *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos son muy prometedores, ya que de un total de 12 hembras a las que transferimos embriones producido por este sistema ICSI-SGMT, con espermatozoides incubados en presencia de ADN exógeno (utilizamos el gen EGFP con dos promotores citomegalovirus y telomerasa), 6 (50%) quedaron gestantes y nacieron 22 lechones, de los cuales 12 (54.5%) han resultado positivos en diferentes tejidos a la presencia del gen. Estos resultados abren nuevas puertas para la producción de cerdos transgénicos como modelos experimentales en el ámbito biomédico (García Vázquez *et al.*, 2009).

CONCLUSIONES

La biotecnología de la reproducción en la especie porcina se ha desarrollado notablemente en los últimos años permitiendo el uso de nuevas técnicas para la producción de embriones y animales, la modificación genética de los mismos, así como la conservación de gametos y embriones. En los próximos años esperamos ver la generalización en su uso y la aplicación en el desarrollo de modelos experimentales que sean de ayuda a en el campo de la biomedicina.

BIBLIOGRAFÍA

- BACCI ML. *A brief overview of transgenic farm animals*. Vet Res Commun 2007; 31 Suppl 1: 9-14.
- BOLARÍN A ET AL. *Dissimilarities in sows' ovarian status at the insemination time could explain differences in fertility between farms when frozen-thawed semen is used*. Theriogenology 2006; 65: 669-680.



- BREM G ET AL. *Production of transgenic mice, rabbits and pigs by microinjection into pronuclei.* *Zuchthygiene*, 1985, 20: 251-252.
- CAMERON RD ET AL. *Cryopreservation and transfer of pig embryos.* *Soc Reprod Fertil Suppl.* 2006; 62:277-291.
- CARRASCO LC ET AL. *Determination of glycosidase activity in porcine oviductal fluid at the different phases of the estrous cycle.* *Reproduction* 2008; 136: 833-842.
- COLENBRANDER B, ET AL. *Optimizing semen production for artificial insemination in swine.* *J Reprod Fertil* 1993; 48: 207-215.
- COY P ET AL. *Birth of piglets after transferring of in vitro-produced embryos pre-matured with R-roscovitine.* *Reproduction* 2005; 129: 747-755.
- COY P ET AL. *Oviduct-specific glycoprotein and heparin modulate sperm-zona pellucida interaction during fertilization and contribute to the control of polyspermy.* *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105: 15809-15814.
- CUELLO C ET AL. *Piglets born after non-surgical deep intrauterine transfer of vitrified blastocysts in gilts.* *Anim Reprod Sci.* 2005; 85: 275-286.
- DESCHAMPS JY ET AL. *History of xenotransplantation.* *Xenotransplantation.* 2005; 12: 91-109.
- ERIKSSON BM ET AL. *Field fertility with exported boar semen frozen in the new flatpack container.* *Theriogenology* 2002; 58: 1065-1079.
- FANTINATI P ET AL. *Laparoscopic insemination technique with low numbers of spermatozoa in superovulated prepuberal gilts for biotechnological application.* *Theriogenology* 2005; 63: 806-817.
- GADEA J. *Semen extenders used in the artificial insemination of swine.* *Review. Spanish Journal of Agricultural Research* 2003; 1: 17-27.
- GADEA J. *Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility.* *Theriogenology* 2005; 63: 431-444.
- GADEA J. *El uso de semen porcino congelado.* *Mundo Ganadero* 2004; 169: 60-62.
- GARCÍA EM ET AL. *Improving the fertilizing ability of sex sorted boar spermatozoa.* *Theriogenology* 2007; 68: 771-778.
- GARCÍA-ROSELLÓ E ET AL. *Intracytoplasmic sperm injection in livestock species: an update.* *Reprod Domest Anim* 2009; 44: 143-151.
- GARCÍA-VÁZQUEZ F ET AL. *Birth of piglets after deep intrauterine insemination with boar spermatozoa coincubated with exogenous DNA.* *Reprod Dom Anim* 42-S2: 89.
- GARCÍA-VÁZQUEZ F ET AL. *Birth of transgenic piglets using SMGT-ICSI technique in combination with RecA recombinase.* *Reprod Dom Anim* 2008; 47 (Suppl. 5), 45.
- GARCÍA-VÁZQUEZ FA ET AL. *Use of flow cytometry to evaluate the capacity of boar sperm to bind of exogenous DNA of different sizes.* *Reprod Fertil Dev* 2007; 19: 316.
- GARCÍA-VÁZQUEZ FA ET AL. *Evaluación de la unión espermatozoide-ADN exógeno en espermatozoides eyaculados y epididimarios.* *Archivos de Medicina Veterinaria.* 2009. 41.
- GARNER DL ET AL. *Viability assessment of mammalian sperm using SYBR-14 and propidium iodide.* *Biol Reprod* 1995; 53: 276-84.
- HAMMER RE ET AL. *Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection.* *Nature* 1985; 315: 680-683.
- HAO YH ET AL. *Production of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) over-expressing piglets.* *Transgenic Res* 2006; 15: 739-750.
- HARRISON RA ET AL. *Use of fluorescent probes to assess membrane integrity in mammalian spermatozoa.* *J Reprod Fertil* 1990; 88: 343-352.
- JOHNSON LA. *Fertility results using frozen boar spermatozoa.* In: Jhonson LA, Larsson K (eds), *Deep Freezing Boar Semen.* *Proc. 1st Int Conf Deep Freezing of Boar Semen.* SLU. Uppsala, 1985. 199-223.
- JOHNSON LA ET AL. *Storage of boar semen.* *Anim Reprod Sci* 2000; 62, 14-172.
- LAVITRANO M ET AL. *Efficient production by sperm-mediated gene transfer of human decay accelerating factor (hDAF) transgenic pigs for xenotransplantation.* *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 14230-14235.
- MARTINAT-BOTTÉ F ET AL. *Cryopreservation and transfer of pig in vivo embryos: State of the art.* *Gynecol Obstet Fertil* 2006; 34: 754-759.
- MARTINEZ EA ET AL. *Successful nonsurgical deep uterine embryo transfer in pigs.* *Theriogenology* 2004; 61: 137-146.
- MARTINEZ EA ET AL. *Deep intrauterine insemination and embryo transfer in pigs.* *Reprod Suppl* 2001; 58: 301-311.



- MATÁS C ET AL. *Effect of sperm preparation method on in vitro fertilization in pigs*. *Reproduction* 2003; 125: 133-141.
- NIEMANN H ET AL. *Transgenic farm animals: an update*. *Reprod Fertil Dev* 2007; 19: 762-770.
- O'DONNELL JK, MARTIN MJ, LOGAN JS, ET AL. *Production of human hemoglobin in transgenic swine: an approach to a blood substitute*. *Cancer Detect Prev* 1993; 17: 307-312.
- PALEYANDA RK ET AL. *Transgenic pigs produce functional human factor VIII in milk*. *Nat Biotechnol* 1997; 15: 971-975.
- PETTERS RM ET AL. *Genetically engineered large animal model for studying cone photoreceptor survival and degeneration in retinitis pigmentosa*. *Nat Biotechnol* 1997; 15: 965-970.
- PROBST S ET AL. *Production of piglets using intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with flowcytometrically sorted boar semen and artificially activated oocytes*. *Theriogenology* 2003; 59: 961-973.
- RHO GJ ET AL. *Activation regimens to prepare bovine oocytes for intracytoplasmic sperm injection*. *Mol Reprod Dev* 1998; 50: 485-492.
- ROBL JM ET AL. *Transgenic animal production and animal biotechnology*. *Theriogenology* 2007; 67: 127-133.
- ROCAJ ET AL. *Fertility of weaned sows after deep intrauterine insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa*. *Theriogenology* 2003; 60: 77-87.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ H ET AL. *In vitro evaluation of sperm quality related to in vivo function and fertility*. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007; 64: 39-54.
- SELLÉS E ET AL. *Analysis of in vitro fertilizing capacity to evaluate the freezing procedures of boar semen and to predict the subsequent fertility*. *Reprod Domest Anim* 2003; 38: 66-72.
- SILVA PF ET AL. *Detection of damage in mammalian sperm cells*. *Theriogenology* 2006; 65: 958-978.
- SWANSON ME ET AL. *Production of functional human hemoglobin in transgenic swine*. *Biotechnology (N Y)* 1992; 10: 557-559.
- VAN COTT KE ET AL. *Transgenic pigs as bio-reactors: a comparison of gamma-carboxylation of glutamic acid in recombinant human protein C and factor IX by the mammary gland*. *Genet Anal Biomol Eng* 1999; 15: 155-160.
- VELANDER WH ET AL. *High level expression of a heterologous protein in the milk of transgenic swine using the cDNA encoding human protein*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 12003-12007.
- WABERSKY D ET AL. *Effect of time of insemination relative to ovulation on the fertility with liquid and frozen boar semen*. *Theriogenology* 1994; 42: 831-840.
- WATSON PF ET AL. *Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial*. *Theriogenology* 2002; 57: 1683-1693.
- WOELDERS H. *Overview of in vitro methods for evaluation of semen quality*. In: Johnson LA, Rath D (eds), *Boar Semen Preservation II*. Paul Parey Scientific Publishers, Berlin and Hamburg, 1991. 145-164.



TRABAJO CON GRANDES ANIMALES EN UN ANIMALARIO DE INVESTIGACIÓN NCB3

Miguel Ángel Sánchez Martín
Animalario CISA-INIA, Madrid

El trabajo con grandes animales en una unidad experimental tiene algunas peculiaridades que condicionan la gestión de recursos materiales y humanos. Entre ellas, podríamos destacar los alojamientos especiales no estandarizados, las técnicas de manejo, los riesgos laborales específicos y los requerimientos muy diferentes según las especies.

El asunto central es la no estandarización de materiales, dietas y equipamiento cuando comparamos con las especies denominadas como “animales de experimentación” que se relacionan en el correspondiente anexo del RD 1201/05. Asimismo se requiere la autorización de la Autoridad Competente para poder trabajar con estas especies, precisamente por no estar incluidas en el mencionado anexo.

El personal técnico en los animalarios, generalmente tiene formación y/o experiencia con las especies más comunes en los centros de experimentación, por lo que el veterinario, conocedor de las técnicas de propeútica clínica, ha de asumir el papel de una formación difícil de encontrar en las instituciones docentes.

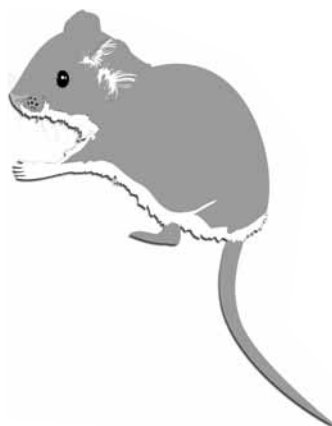
La gran variedad de especies con las que tenemos que trabajar (équidos, bovinos, ovinos, cerdos, aves y en ocasiones fauna silvestre) hace que la dispersión de parámetros aumente de una manera espectacular. La bibliografía, los artículos científicos y de divulgación, no siempre dan respuesta a los retos planteados y las soluciones que existen en las explotaciones de animales domésticos de abasto o que “no existen” en la fauna silvestre, hacen difícil y creativa la tarea de encontrar aquellas alternativas más idóneas que distan mucho de ser una simple extrapolación “desde la explotación ganadera al animalario”.

En el caso del CISA, los requerimientos de seguridad biológica constituyen un condicionante más que estrecha el arco de soluciones. Desde un alojamiento que cumpla la legislación en cuanto a

espacio disponible, hasta una dieta adecuada y compatible con el sistema de tratamiento de residuos en instalación “biocontenida”.

En la mayoría de las ocasiones, los equipamientos se han diseñado mano a mano con empresas que trabajan materiales para explotaciones ganaderas o industrias cárnicas, sin ninguna especialización en lo referente al alojamiento experimental en condiciones de bio-contención. La experiencia, el espacio disponible, las posibilidades de financiación han sido cuellos de botella que han “modelado” las soluciones, que por otra parte y siempre sometidas a revisión y mejora, se han mostrado útiles para los fines experimentales, legales y garantes del bienestar y la salud de los animales objeto de uso experimental.

En el apartado de riesgos laborales habría que incluir el manejo de animales pesados y el peligro de accidentes como pisadas, astas, mordeduras, coces, etc. La adecuada formación de los trabajadores, el uso de técnicas de contención física, tranquilización con fármacos, etc. no impiden la alta sensación de respeto y miedo de los trabajadores menos experimentados, y no hay que despreciar el reparo o rechazo de los mismos para trabajar con grandes animales.



LA BIOTECNOLOGÍA REPRODUCTIVA EN LA GESTIÓN DE ANIMALARIOS

RESUMEN DE LA PONENCIA DEL MISMO TÍTULO PRESENTADA
EN LA III JORNADA CIENTÍFICA DE LA SECAL.

Belén Pintado

Centro Nacional de Biotecnología (CNB), CSIC, Madrid

Juan de Dios Hourcade

Dpto. Reproducción Animal INIA, Madrid

Los últimos años han sido testigos de un cambio radical en el funcionamiento de los animalarios, motivado por causas de muy diversa índole. Entre ellas podemos destacar, en primer lugar, el interés creciente en garantizar estados sanitarios conocidos que eviten la interferencia con los datos experimentales. Como consecuencia de ello, se han ido desarrollando paulatinamente instalaciones más sofisticadas con estrictos controles ambientales, promoviendo un número creciente de barreras de contención frente a agentes infecciosos, lo que ha supuesto un sensible encarecimiento del espacio o, lo que es lo mismo, una reducción del espacio útil para alojamiento de los animales.

Otro factor importantísimo ha sido la irrupción de los animales modificados genéticamente, como herramienta fundamental en los estudios biomédicos, y la globalización de la investigación a nivel mundial, promocionando el intercambio de estirpes mutantes no disponibles en los repositorios comerciales o académicos tradicionales.

Por último, y no por ello menos importante, las implicaciones éticas de la experimentación animal, que impulsan el principio de sustitución de especies más desarrolladas por otras de menor capacidad sensitiva, siempre que ello pueda llevarse a cabo.

Como consecuencia del nuevo entorno se ha promovido la aparición de “especies emergentes”, como el pez cebra o el *Xenopus*, y la utilización de ratones ha aumentado de forma exponencial en detrimento de otros mamíferos, situación que es consecuencia directa de la creación de miles de estirpes mutantes en los últimos 25 años. Esta situación ha acarreado en muchos casos la saturación de las

instalaciones, no sólo por las estirpes generadas en las propias instituciones, sino también por el intercambio creciente de las mismas entre investigadores.

Todo ello obliga a desarrollar nuevas estrategias para gestionar el espacio disponible de forma óptima, garantizando el estado sanitario y la pureza genética de las colonias.

La biotecnología reproductiva supone una herramienta eficaz para muchos de estos requerimientos. En este artículo pretendemos hacer una revisión de algunas de ellas y su aplicación como solución a problemas comunes de los animalarios.

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Curiosamente, la tecnología reproductiva que antes se implantó en la ganadería, tiene una aplicación extremadamente limitada en animales de laboratorio. En el caso del ratón, la gran eficiencia de la criopreservación y de la fecundación *in vitro* ha sido posiblemente la mayor causa, unida al hecho de que debe realizarse de forma quirúrgica.

En nuestra experiencia, la inseminación artificial ha supuesto una ligera mejora en la capacidad fecundante con dosis de esperma congelado de estirpe C57Bl/6, pero claramente no es el camino para mejorar la fertilidad. Éste pasa por encontrar sistemas que aumenten la resistencia del esperma de esta estirpe a los procesos de congelación y descongelación.

A diferencia de otros autores, ni la deposición del esperma en la porción apical del cuerno uterino,

ni en la bolsa ovárica, han sido tan eficaces como la inseminación intraoviductal y en ningún caso hemos logrado gestaciones a partir de la inseminación no quirúrgica.

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

Una de las situaciones más típicas es la necesidad de incorporar una nueva línea procedente de unas instalaciones que presentan un perfil sanitario que supone un riesgo para la colonia receptora. Por muy cuidadosos que sean los muestreos sanitarios, un perfil serológico es siempre una manifestación de un estado sanitario pasado; no garantiza que el estado actual de los animales sea el adecuado. Alargar los periodos de cuarentena en prevención de posibles infecciones que hayan pasado inadvertidas en la serología por encontrarse en fase de incubación, da lugar a bloqueos en la incorporación de otras líneas, con los consiguientes problemas para los investigadores que dependen en muchos casos de márgenes de tiempo muy cortos para realizar sus estudios.

En estas circunstancias, la transferencia de embriones es sin duda la solución de elección. La tradicional rederivación por cesárea o la rederivación por neonatos tiene un riesgo sanitario que la transferencia de embriones elimina, ya que realizada adecuadamente siguiendo las normas publicadas por la internacional "Embryo Transfer Society", adoptadas por la Oficina Internacional de Epizootias (http://www.oie.int/eng/normes/mcode/code2007/en_chapitre_3.3.4.htmk), garantiza la eliminación de cualquier agente bacteriano, parasitario y vírico incluido en las recomendaciones de FELASA. Aunque en algunos foros se ha cuestionado la idoneidad de este sistema, las circunstancias experimentales son tan extremas que no suponen una situación real. Por otro lado, la experiencia de muchas instalaciones en los últimos años es que es un sistema totalmente fiable y eficaz.

La escasa implantación de esta metodología en nuestros animalarios posiblemente se derive de problemas técnicos, que revisaremos a continuación. Sin embargo, es importante dejar claro que la inversión de equipamiento necesaria para su puesta a punto es mínima, y que el aprendizaje de la técnica puede realizarse con relativa facilidad. Ade-

más, abre las puertas además a otras posibilidades que compensarán con creces la inversión inicial. Por ejemplo, disponer de personal capaz de hacer una transferencia, posibilita la recepción de embriones, una opción para obtener animales de repositorios internacionales en muchos casos más rápida que la solicitud de animales vivos.

Por otra parte, poder manejar embriones supone una alternativa al transporte de animales vivos, ya que la utilización de formas embrionarias supone no comprometer el bienestar animal que siempre entra en riesgo en un transporte, especialmente en trayectos largos. Además, y dado que la realización de una evaluación de riesgos es obligatoria según la legislación actual para el transporte de animal transgénico, la utilización de embriones garantiza un riesgo nulo, incluso en casos en que las fases adultas pudieran suponer riesgos moderados. En otras palabras, la posibilidad de una liberación involuntaria al medio ambiente de un mamífero genéticamente modificado cuando se transportan gametos y embriones es inexistente.

La segunda fase del proceso es la propia recogida de los embriones. Ésta debe de realizarse mediante el lavado del tracto reproductivo, que en rata y ratona supone el sacrificio de la donante. En otras especies la recogida puede realizarse sin necesidad de sacrificio, e incluso en grandes especies como el bovino, no es necesario realizar una intervención quirúrgica. La obtención de embriones en ratonas se realiza a partir del lavado del oviducto para fases de una célula hasta mórula y en el útero en fases de mórula compactada hasta blastocisto. Todas estas fases son susceptibles de ser criopreservadas y muchas de ellas pueden ser transportadas en fresco a diferentes temperaturas sin comprometer excesivamente la viabilidad. Mientras que los embriones criopreservados pueden ser conservados indefinidamente siempre que se garantice el mantenimiento de la temperatura, los embriones transportados en fresco deben de ser implantados lo más rápidamente posible, ya que a partir de las 24 horas se aprecia una disminución marcada de la viabilidad, incluso en aquellos que simplemente se han cultivado in vitro incluso en condiciones óptimas.

La transferencia a las receptoras se realiza fundamentalmente de forma quirúrgica y, por las especiales características del ciclo estral de las ratonas,

es necesario que estas se encuentren en fase de pseudogestación. Es decir, que el cuerpo lúteo de ciclo haya recibido una señal nerviosa que le haga permanecer activo hasta el día 10-11 post estro. La inducción de la pseudogestación se realiza de forma totalmente eficaz utilizando machos vasectomizados. Cualquier sistema de estimulación mecánico que se ha descrito en la literatura es comparativamente muy poco fiable.

Como norma general, los mejores resultados se obtienen cuando el embrión y la receptora están sincronizados, tanto en el tiempo como en el espacio. En otras palabras, cuando un embrión en una fase determinada de desarrollo es transferido a una hembra receptora cuyo tracto genital está en la fase específica para albergar ese estadio de desarrollo. También es importante la sincronización en el espacio: una fase de desarrollo uterina debe de ser colocada en el útero y una fase oviductal en el oviducto. Como ocurre muchas veces en biología, las leyes no son totalmente estrictas y es posible obtener gestaciones incluso cuando no se cumple esta regla. Sin embargo, la asincronía debe de ser a favor del embrión. De esta forma es perfectamente posible que un embrión en fase de blastocisto se implante cuando se transfiere a un oviducto de una ratona en el primer día de pseudogestación. También se pueden transferir fases típicamente uterinas al oviducto de la receptora. No quiere decir que se implantarán en el oviducto, sino que son capaces de trasladarse al útero donde seguirán la gestación como si hubieran sido emplazadas ahí. Esto es posible porque los embriones de roedores presentan una particularidad fisiológica que no está presente en otras especies: son capaces de entrar en un estado fisiológico llamado “diapausa”. En esta situación son capaces de retardar su metabolismo incluso varios días hasta que encuentran las condiciones idóneas para implantarse. Este fenómeno es el que permite a las hembras de roedor alargar en ciertos casos la gestación, especialmente cuando se ha producido una cubrición en el estro post-parto y que podría suponer el nacimiento de una nueva camada, cuando aun no se ha destetado la anterior.

La técnica de la transferencia de embriones es posiblemente el mayor escollo técnico para todo el proceso, pero solo requiere una cierta práctica, el material quirúrgico adecuado y la disponibilidad de un estereomicroscopio con luz incidente y transmitida que permita una magnificación de unos 20 aumentos.

Dado que la transferencia de embriones es un paso obligado en multitud de técnicas se han realizado bastantes estudios para tratar de establecer posibles factores limitantes. En algunos casos se han dado por buenas afirmaciones técnicas que la experiencia científica ha demostrado que son falsas, como por ejemplo la recomendación de no usar analgésicos en las receptoras por una supuesta interferencia con la implantación. De la misma manera, ambos lados son igualmente capaces de llevar a cabo la gestación y la transferencia bilateral, aunque mejora ligeramente los índices de prolificidad, no llegó a demostrar una ventaja significativa sobre la transferencia unilateral.

ALTERNATIVAS A LA CRIOPRESERVACIÓN DE EMBRIONES Y ESPERMATOZOIDES: ICSI Y CLONACIÓN

La criopreservación de espermatozoides y de embriones de roedores merece un artículo monográfico, que se escapa de los objetivos de esta revisión, y es una técnica cuya incorporación es obligada para poder hacer una correcta gestión de las líneas murinas en los animalarios. Sin embargo, somos conscientes de que hoy en día no todos disponen de la misma, aunque debería plantearse como una necesidad urgente y a corto plazo en instalaciones que trabajen con cepas no disponibles comercialmente.

En esta sección nuestra intención es, exclusivamente, destacar algunas alternativas que están al alcance de cualquier animalario y que gracias a avances técnicos muy recientes permiten recuperar cepas mutantes, incluso cuando no se disponen de gametos congelados según los protocolos de criopreservación desarrollados para estas especies.

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) ha demostrado que es posible recuperar animales vivos incluso cuando se inyectan cabezas de espermatozoides muertos, lo que da una oportunidad a la recuperación de animales a partir de espermatozoides congelados incluso sin crioprotector. Un avance más en este sentido y recientemente publicado es la posibilidad de obtener un animal viable a partir de la clonación de una célula somática procedente de un animal muerto y conge-

lado a -20°C durante mas de 10 años. En otras palabras, el mensaje que queremos transmitir es que la muerte sin descendencia de un animal único por sus características genéticas no significa la pérdida irremediable de ese patrimonio y que hoy en día la biotecnología reproductiva tiene herramientas para recuperarlo. Para ello es necesario que el animalario actúe conservando, si es posible, el espermatozoides y si no manteniendo el animal o parte de sus tejidos congelados. Por supuesto que las técnicas de recuperación no son asequibles nada más que para un número muy reducido de laboratorios, pero es importante saber que existe la posibilidad y que en caso de necesidad puede recurrirse a la misma, aunque para ello es necesario conservar el material biológico en unas condiciones que están al alcance de cualquier instalación.

FECUNDACIÓN IN VITRO

Esta tecnología está plenamente desarrollada hoy en día con protocolos estandarizados eficaces y fiables y tiene unos requerimientos técnicos mínimos que le hacen asequible a cualquier instalación. La aplicación práctica es mucho mas limitada que la transferencia de embriones, pero correctamente aplicada puede dar una respuesta a ciertos problemas de funcionamiento del animalario y permite un ahorro de espacio para ciertas situaciones. Es, claramente, el siguiente avance técnico que deberá incorporarse a los animalarios una vez lo haya hecho la transferencia embrionaria como técnica rutinaria.

La fecundación in vitro permite la obtención de un numero elevado de animales de una edad determinada, empleando para ello un menor espacio que si se tuviera que recurrir a la monta natural. La combinación de tratamientos de superovulación de donantes con la utilización de espermatozoides de un macho o a lo sumo dos, evita tener que mantener un número elevado de estos con el fin de disponer de los mismos en un periodo de tiempo muy corto para generar cruces de monta natural. Evidentemente es necesario disponer de hembras receptoras y machos vasectomizados, pero estos deben estar disponibles en cualquier instalación que realiza transferencia de embriones y, hay una ventaja añadida: la prolificidad de las hembras no consanguíneas es marcadamente mejor que la de hembras consanguíneas, con lo que el número de gestantes que seria necesario generar es menor.

La obtención de embriones mediante FIV ha pasado a ser el sistema estándar en repositorios mundiales como el EMMA o Jackson con el fin de obtener los embriones destinados a la criopreservación de líneas mutantes, una demostración clara de que la eficiencia es mayor.

CONCLUSIONES

La modernización de la gestión de animalarios no pasa exclusivamente por la incorporación de equipamientos complejos para garantizar la calidad sanitaria de los animales alojados. De la misma forma, es preciso incorporar nuevas técnicas experimentales que permitan una gestión más ágil y segura. En este aspecto, la biotecnología reproductiva brinda herramientas que solucionan problemas de transporte, espacio y gestión de colonias, que no suponen una dificultad técnica y logística inalcanzable.

La formación de al menos un técnico y la compra del equipamiento necesario no supone una inversión inasequible en instalaciones de apoyo a la investigación que trabajan con estirpes no disponibles comercialmente y abre una serie de posibilidades que permiten amortizarla con creces en poco tiempo.



3 ÉTICA y legislación

VI ENCUENTRO DE COMITÉS DE ÉTICA DE UNIVERSIDADES Y CENTROS DE INVESTIGACIÓN PÚBLICOS DE ESPAÑA

Anamaria Madariaga O’Ryan

Universidad de Alicante

El pasado mes de noviembre, tuvo lugar en Sitges (Barcelona) el VI Encuentro de Comités de Ética de Universidades y Centros de Investigación Públicos de España.

Partiendo de la base de que, como asistente, quizá prestara más atención a los puntos que más interesan a nuestro ámbito, yo diría que se trabajó sobre el papel de los comités de ética en diferentes aspectos:

- Repercusión de la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica y el cambio de los actuales comités de bioética por comités de ética de la investigación. El Comité de Ética de la Investigación debería ser un único interlocutor, de forma que se cree una base de datos única de cada centro, el cual podría incluir diferentes comisiones: de investigación con seres humanos, de experimentación animal y de investigación con agentes biológicos y organismos modificados genéticamente (OMG), siguiendo los modelos de los comités de otras universidades y del CSIC.

- Proponer una normativa, que haga preceptiva la evaluación por parte de los comités de los procedimientos utilizados en tesis doctorales y en másteres oficiales.

- Otro punto importante, y en el que se insistió bastante, es la necesidad de formación en ética de la investigación, como una responsabilidad de los comités de ética de cada centro, que se podría incluir como curso en doctorados, máster y último curso de carreras biotecnológicas.

Personalmente, participé en el grupo de trabajo sobre “Problemas, dificultades y conflictos en lo

comités de ética para experimentación animal. Experiencias y propuestas de consenso”. El trabajo se basó fundamentalmente en analizar los formularios de solicitud de evaluación de procedimientos, diferentes según su modalidad, si es de investigación o de docencia. Los formularios deben ser detallados y únicos y, en los procedimientos docentes, de una validez de 2-3 años, para facilitar el trabajo a docentes e investigadores. Igualmente, se aconsejó dar a conocer a los investigadores el Comité de Ética de la Investigación como un organismo de apoyo y asesoramiento.

También se abordó el papel de los comités de ética en el trabajo con agentes biológicos y OMG. Se trataron aspectos como la importancia de la concienciación de los investigadores del papel asesor y colaborador de estos comités, la notificación de su uso de estos organismos al Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino y a la CC.AA., y la evaluación de los procedimientos experimentales, pero no de los riesgos, responsabilidad del Servicio de Prevención del Centro, y cuyo informe debería acompañar a la solicitud presentada al Comité.

Si el VI Encuentro fue intenso y muy interesante, tanto en las sesiones mismas como en el intercambio con los compañeros, el reencuentro con los amigos cómo siempre fue lo más enriquecedor.

Las conclusiones y recomendaciones de este evento se han publicado en la página Web de RCEUE: <http://www.ub.es/rceue>

BIENESTAR ANIMAL EN LOS MATADEROS

Jesús Martínez Palacio

Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid

Os adjuntamos un nuevo comentario de la colección de bioética de la Asociación Española de Bioética y Ética Médica (AEBI). En este caso, se resume una noticia aparecida en el diario 'El País' según la cual la Comisión Europea propone dar un "trato humano" a los animales en los mataderos, planteando que haya un "oficial del bienestar animal", responsable de que se tomen todas las medidas posibles para reducir el sufrimiento de los animales. Afortunadamente, el concepto de bienestar animal y la ética en nuestras relaciones con los animales se extienden...

El País, EMILIO DE BENITO - Madrid - 18/09/2008

Cada año, los mataderos de la UE sacrifican 250 millones de cerdos, vacas, ovejas y cabras, sin contar con los miles de millones de pollos, 25 millones de animales para utilizar su piel y un número variable de cabezas de ganado enfermos. El número no va a descender, pero la Comisión Europea propone que el trato que se les dé sea lo más "humano" posible. Para ello ha elaborado una propuesta que se centra en dos aspectos: en todos los mataderos habrá un "oficial del bienestar animal", responsable de que se tomen todas las medidas posibles para reducir el sufrimiento de los animales al mínimo (lo que incluiría la formación de todo el personal).

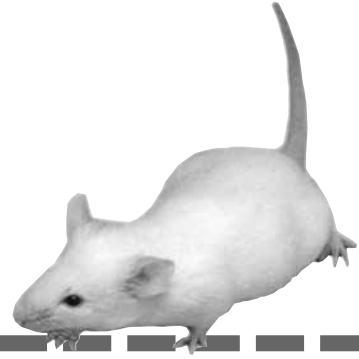
COMISIÓN EUROPEA

Todo el trabajo se basaría en un aspecto: garantizar que los animales sean dejados inconscientes antes de que actúen los matarifes. Una vez sean atontados o adormecidos, habrá que realizar una vigilancia continua para evitar que se espabilen. También se pide a los estados que creen servicios de vigilancia e investigación para minimizar el sufrimiento de los animales.

"Como sociedad, tenemos la obligación de cuidar a los animales, lo que incluye minimizar su estrés y evitar el dolor durante el proceso de la matanza", ha dicho la comisaria europea de Sanidad, Androulla Vassiliou. "Las actuales leyes de la UE están anticuadas y necesitan revisión. Esta propuesta supondrá una auténtica diferencia en la manera en que los animales son tratados durante el sacrificio, y promoverá la innovación", dijo Vassiliou.



4 TÉCNICAS



ESTA SECCIÓN, TIENE COMO OBJETIVO DESCRIBIR DE FORMA SINTÉTICA Y PRÁCTICA, TODO TIPO DE TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES.

TODOS LOS SOCIOS, ESPECIALMENTE TÉCNICOS,
ESTÁN INVITADOS A PARTICIPAR EN ELLA

CONTACTO: **MARÍA GRANADA PICAZO; mgpicazo@sescam.jccm.es**

MÉTODOS DE RESTRICCIÓN UTILIZADOS EN PRIMATES NO HUMANOS

M^a José G-M Piedras

Marta Miró-Murillo

M^a Carmen Fernández Criado

Carmen Cavada

Universidad Autónoma de Madrid

Los primates no humanos (PNHs) son animales de gran complejidad, fundamentales en estudios de biomedicina y, además, portadores de zoonosis de graves consecuencias para el ser humano. Por ello, cuando se trabaja con PNHs es fundamental garantizar que el animal sufra el mínimo estrés, que el técnico o investigador tenga una formación adecuada, y que disponga de un equipamiento que le permita manipularlos con la máxima seguridad.

EQUIPAMIENTO DEL EXPERIMENTADOR

Este equipamiento tiene como función evitar al experimentador lesiones por arañazos y mordeduras, así como el contacto con secreciones corpora-

les de los PNHs, que son la principal vía de contagio de zoonosis. Por ello, la protección de brazos, manos y mucosas de la cara es fundamental.

Este equipo consiste en:

- Traje de manga larga, de uso exclusivo en la habitación de los PNHs.
- Doble guante de látex o de nitrilo.
- Gafas de plástico y mascarilla o una pantalla de plástico transparente (Pulsafe, Clearways®) que se ajusta a la cabeza y que cubre por completo el rostro (Fig. 1A).
- Calzas o patucos desechables para entrar a la habitación de los PNHs. De esta manera, se evita introducir suciedad/ patógenos desde el exterior.

Para manipular PNHs conscientes y bajo sedación ligera, es necesario el uso de guantes de piel gruesa (Fig. 1A) que protegen las manos y brazos de mordeduras y arañazos. Estos guantes son útiles para el manejo de animales de pequeño tamaño, como calitricidos y tamarines, porque protegen eficazmente frente a mordeduras; sin embargo, si se trata de individuos de mayor tamaño, como macacos y babuinos, no son seguros debido al tamaño de los caninos de estas especies. Para manipular PNHs grandes deben utilizarse guantes de malla metálica, que ofrecen una mayor protección.

MÉTODOS FÍSICOS DE SUJECIÓN

Pared retráctil: es un método muy común, seguro, rápido y relativamente poco estresante para el animal, que se utiliza para exploraciones rutinarias y administración de fármacos.

Consiste en que la pared trasera de las jaulas se desplaza hacia el frontal, dejando al animal en un espacio reducido que limita sus movimientos y permite al experimentador acceder a él de forma segura (Fig. 2). Para utilizar la pared retráctil se deben tener en cuenta una serie de consideraciones:

- Aplicar sólo a un animal, que debe aislarse previamente en el módulo en que se vaya a manipular la pared retráctil.
- Antes de comenzar, retirar de la jaula elementos con los que el animal se puede golpear durante el desplazamiento de la pared (juguetes, cuerdas, etc).
- Desplazar lentamente la pared hacia el frontal de la jaula, evitando que el animal se enganche los dedos con los barrotes y/o pared de la jaula.
- Permitir, mediante movimientos suaves de la pared retráctil (Fig. 2C) hacia delante y hacia atrás, que el animal se coloque en una posición cómoda que permita la manipulación (Fig. 2D).

Palos y collares: son herramientas relativamente seguras que permiten mover al animal consciente de un lado a otro. Se utilizan para llevar a los animales a otros dispositivos de inmovilización como sillas de primates.

Se usan palos de dos tamaños diferentes, que manipula el experimentador, y un collar que se coloca



Figura 1. Métodos físicos de sujeción

A: Sujeción manual de un Macaco rhesus adulto. El animal está sometido a una sedación ligera.

B: Palos y collares. Se utilizan palos de dos tamaños diferentes y collares de diferentes diámetros para los distintos tamaños de PNH.

de forma permanente al cuello del PNH (Fig. 1B). Los palos tienen un gancho en un extremo, por donde se pueden acoplar al collar, que manipula el experimentador desde el otro extremo del palo. De esta manera el experimentador sujeta al PNH a distancia, sin riesgo para él ni para el animal. Para enganchar el palo al collar, es necesario inmovilizar al PNH previamente mediante la pared retráctil. Este sistema es seguro utilizarlo en animales de hasta 6 kg de peso y requiere cierto entrenamiento del experimentador y del animal, cuya duración es muy variable y depende mucho del carácter del animal.

Sillas de sujeción de PNHs: el animal queda inmovilizado y en una posición confortable. Es un método muy seguro. La mayoría de las sillas son ajustables y se adaptan a los distintos tamaños de los animales. Existen casas comerciales que las distribuyen y se adaptan a las necesidades del experimento (Primate Products®). Son útiles para extracción de muestras (sangre, orina), exploraciones, administración de fármacos (vía oral y parenteral) y realización de pruebas experimentales.

Normalmente, los animales se trasladan a la silla con el método de los palos y collar anteriormente descrito. Una vez en la silla, quedan sujetos por el cuello y por la cintura mediante piezas que el experimentador puede manipular. Es preciso entrenar a los animales a salir de la jaula y desplazarse a la silla y, luego, un periodo de adaptación a la silla, que

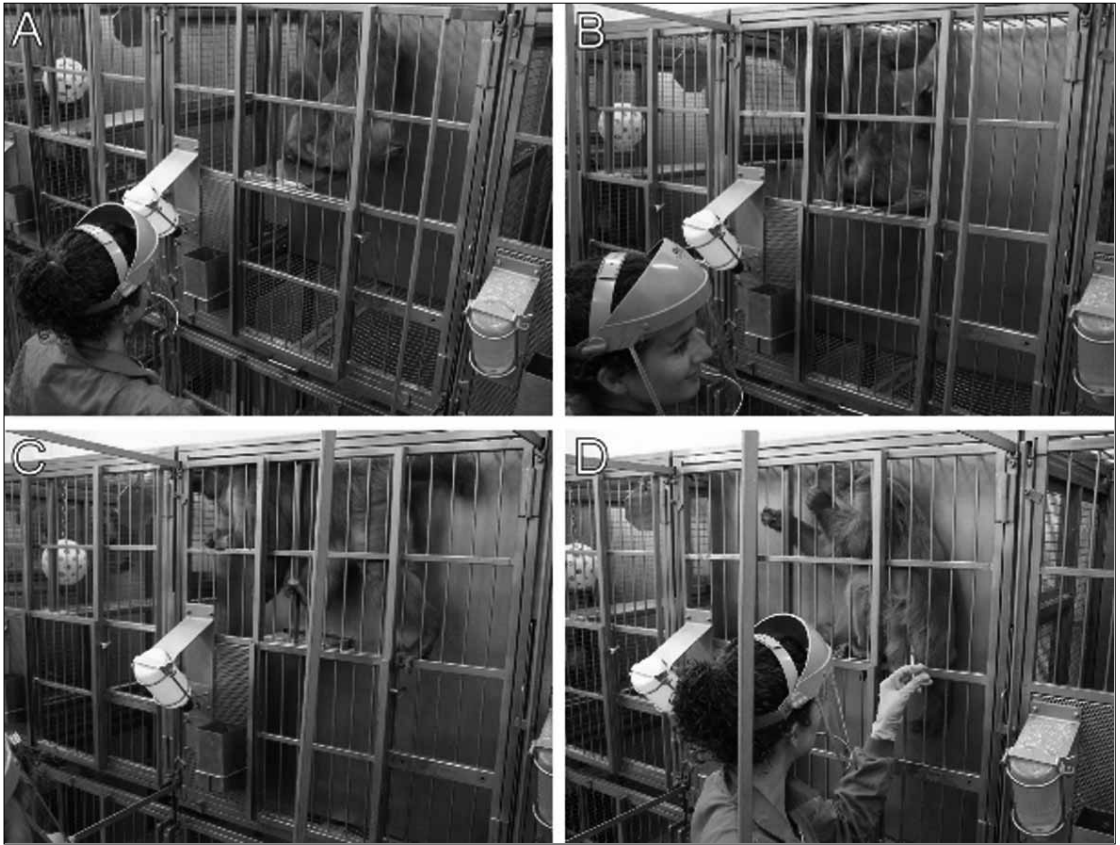


Figura 2. Pared retráctil

A y B: Desplazamiento de la pared hacia el frontal de la jaula. C: Colocación del animal hasta su inmovilización. D: Posición correcta del animal. Inyección intramuscular de ketamina.

también depende del carácter del animal. Aunque se trata de un método muy seguro, los PNHs sujetos a la silla siempre deben estar bajo la supervisión del experimentador.

Sujeción manual: es un método rápido y barato, pero implica riesgo para el animal, ya que es muy estresante, y para el experimentador, que se puede exponer a ser lesionado. El experimentador debe proteger sus manos y brazos con guantes de piel (Fig. 1A). Se utiliza con especies de pequeño tamaño (marmosetes, tamarines y monos ardilla) y con los ejemplares más jóvenes de especies de mayor tamaño.

Los factores a tener en cuenta para llevar a cabo este método de sujeción incluyen la especie, tamaño, edad, estatus sanitario (en especial en lo que respecta a Herpesvirus B), tamaño de los caninos, entrenamiento del personal y necesidades del estudio.

La manera correcta de sujetar a un PNH se describe a continuación:

- PNHs de pequeño tamaño (tamarines y titís): se sujetan con una mano a la altura del tórax. La sujeción debe ser firme pero sin dificultar la respiración del animal. Los monos pequeños se estresan mucho con este tipo de manipulación y pueden sufrir infartos, por lo que es conveniente habituarles de forma paulatina.
- PNHs de mayor tamaño: con el animal de espaldas al experimentador, se sujetan los codos a la altura de la espalda, de esta manera la boca y las extremidades superiores del animal están fuera del alcance del experimentador (Fig. 1A). Si es necesario inmovilizar las extremidades inferiores, se colocan cruzadas a la altura de las tibias y se sujetan con fuerza. Dependiendo del tamaño del animal, serán necesarias una o dos personas para la sujeción.

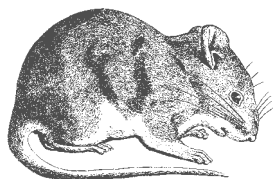
MÉTODOS QUÍMICOS DE SUJECIÓN

Son de elección cuando el experimento y la salud del animal lo permiten. Facilitan la manipulación y disminuyen al máximo el riesgo para el experimentador. Se utilizan diferentes drogas de administración intramuscular, la más común es la ketamina (Ketolar®), aunque siempre se debe elegir el fármaco o combinación de fármacos y su dosificación en función del estado clínico del animal y del tipo de manipulación a realizar. En la *Tabla 1* se muestran algunos fármacos anestésicos que se pueden utilizar en PNHs y su dosificación; la duración del efecto dependerá de la especie y la dosis empleada.

Fármaco	Administración IM y dosis
Ketamina	5-25 mg/kg*
Ketamina + Medetomidina	5 mg/kg + 100 µg/kg*
Ketamina + Xilacina	5-10 mg/kg + 1-2 mg/kg*
Ketamina + Midazolam	10 mg/kg + 0,5 mg/kg

TABLA 1. Fármacos para inducir sedación en PNHs (Fortman et al., 2002).

Aunque es poco frecuente que aparezcan complicaciones durante una sedación, se deben controlar la frecuencia cardiaca, respiratoria, pulso y coloración de mucosas hasta que el animal esté recuperado y consciente en la jaula. De la misma manera, durante la sedación y la recuperación, se debe controlar el estado de consciencia mediante el reflejo palpebral y el tono mandibular. Es fundamental para la seguridad del experimentador distinguir entre un PNH sedado y uno plácidamente dormido, sobre todo cuando se usan fármacos anestésicos de efecto breve. El animal sedado no responde a estímulos externos (por ejemplo un pellizco en la oreja), el animal dormido sí.



ENTRENAMIENTO PARA TÉCNICAS DE RUTINA

Muchos PNHs pueden ser entrenados para participar en procedimientos de rutina (extracción de sangre, examen del periné, citologías vaginales, etc). En el entrenamiento de los animales hay que tener en cuenta estas consideraciones:

- Debe ser siempre el mismo personal el que realice las sesiones de entrenamiento. El procedimiento se agiliza si los animales están familiarizados con el personal.
- Las tareas complicadas se pueden dividir en etapas hasta conseguir el objetivo deseado.
- Se deben adaptar las sesiones de entrenamiento al carácter del animal, ser pacientes y usar recompensas (fruta, cacahuetes, etc). Puede ser de gran utilidad administrar la ración diaria de fruta sólo como recompensa durante los entrenamientos.

CONCLUSIONES

La complejidad e importancia de los PNHs nos obligan a elegir cuidadosamente la técnica de sujeción, antes de llevar a cabo cualquier procedimiento. La elección de la técnica se hará teniendo en cuenta la especie, tamaño, estado sanitario y clínico del animal, pericia por parte del experimentador y objetivo del procedimiento. Debido a que son animales potencialmente portadores de zoonosis de graves consecuencias para el ser humano, la técnica de elección debe garantizar siempre la máxima seguridad para el experimentador.

BIBLIOGRAFÍA

- BENNETT BT, ABEE CR, HENRICKSON R. "Nonhuman primates in biomedical research. Biology and management". American College of Laboratory Animal Medicine Series. 1995.
- FORTMAN JD, HEWETT TA, BENNETT BT. "The laboratory non-human primate". CRC PRESS. 2002.

Presión POSITIVA

ESTA SECCIÓN TIENE COMO OBJETIVO SER UNA FUENTE DE ACTUALIZACIÓN PROFESIONAL PARA LOS RESPONSABLES DE ANIMALARIOS.

TODOS LOS SOCIOS ESTÁN INVITADOS A PARTICIPAR ENVIÁNDONOS SUS ARTÍCULOS

CONTACTO: **HERNÁN SERNA; hserna@binaex.com**

LA IMPORTANCIA DE LA ESTANDARIZACIÓN GENÉTICA EN LOS ROEDORES DE LABORATORIO

Fernando Benavides

*The University of Texas - M.D. Anderson Cancer Center
Department of Carcinogenesis - Science Park. USA*

Jean-Louis Guénet

Institut Pasteur, Paris. France

INTRODUCCIÓN

En estos tiempos, donde la genómica y la manipulación genética del ratón y la rata de laboratorio progresan día a día, se hace imprescindible estandarizar los animales utilizados en investigación. Los roedores de laboratorio deben ofrecer un nivel de calidad determinado por las características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que definen su fenotipo, y éste, a su vez, es el resultado de la interacción entre su genotipo y el ambiente. Dado que el ambiente de los animalarios es muy homogéneo (controlado), las características de un roedor de laboratorio derivan principalmente de su patrimonio genético. En consecuencia, el control y la

preservación de la calidad genética del animal de laboratorio deben ser prioritarios en un animalario.

Dentro de los roedores de laboratorio “genéticamente definidos”, los más utilizados son las líneas consanguíneas y las líneas congénicas (mutantes, transgénicos y *knockouts*). A continuación, veremos un resumen de estas líneas y los controles genéticos recomendados.

LÍNEAS CONSANGUÍNEAS

Las líneas consanguíneas son el prototipo de las líneas genéticamente estandarizadas, debido a que su constitución genética está fijada en forma casi

definitiva. Una línea o cepa consanguínea (en inglés, *inbred strain*) es aquella que resulta del acoplamiento sistemático e ininterrumpido entre hermanos y hermanas, por más de 20 generaciones (Festing, 1979; Silver, 1995; Benavides y Guénet, 2003; Fox *et al.*, 2006). Se ha calculado, por ejemplo, que a partir de la sexta generación de endocría, el 20% de los *loci* en estado heterocigoto pasan a ser homocigotos en cada generación; por eso se considera que después de la generación 20, la cantidad de loci que aún no se han fijado en el estado homocigoto es menor al 1,3%. Este pequeño porcentaje de loci heterocigotos se llama “heterocigosis residual”. Se llega así a una situación donde encontramos dos fuerzas actuando en sentidos opuestos: la práctica sistemática de los acoplamientos hermano x hermana, disminuyendo la variabilidad dentro de la población, y la aparición excepcional de mutaciones espontáneas, generando diversidad por la introducción de alelos nuevos (Stevens *et al.*, 2007).

La progresión hacia la consanguinidad se acompaña de la fijación de un alelo único en un locus determinado, lo que implica la pérdida de alelos en la población en cuestión. Se considera que la fijación de un alelo sobre otro sucede al azar, aunque éste no sea siempre el caso. Debido a esta situación, consideramos que las líneas consanguíneas son isogénicas (genéticamente idénticas) y homoalélicas (portan una única variante por locus). De esta forma, cada línea consanguínea representa una colección única de genes (alelos), imposible de repetir. De estos datos podemos deducir que las líneas consanguíneas constituyen poblaciones artificiales, aunque esto no les resta ningún valor como excelentes modelos experimentales (Benavides y Guénet, 2008).

La isogenicidad, o igualdad genética es, sin duda, la característica más importante de estas líneas. El hecho de que todos los individuos pertenecientes a una línea sean idénticos genéticamente, permite el intercambio de tejidos, como las células del sistema inmune o células tumorales (en términos de histocompatibilidad se habla de animales singénicos).

El alto porcentaje de homocigosis (mayor del 98%) es otro rasgo particular de estos animales. Por lo tanto, los individuos que pertenecen a una línea consanguínea no son equivalentes a una colección de gemelos idénticos (monocigóticos), ni tam-

poco a un grupo de animales clonados, ya que estos dos últimos son heterocigotos en muchos de sus loci mientras que los primeros son homocigotos para todos los loci en su genoma.

La asociación de los caracteres fijados en cada línea consanguínea genera una individualidad con respecto a sus cualidades, rasgo que habrá que tener en cuenta a la hora de la elección de una línea para un trabajo de investigación. En este aspecto, algunos autores dividen a las líneas consanguíneas en aquellas de uso general y las de uso especial. Aunque no existe una definición formal de una línea de uso general, son aquellas que se encuentran ampliamente distribuidas y son usadas en diferentes disciplinas. La sensibilidad a ciertas enfermedades infecciosas, la tendencia a desarrollar enfermedades autoinmunes y la susceptibilidad a los carcinógenos son sólo algunos ejemplos de la gran utilidad de estas líneas como animales de laboratorio de uso especial (Festing, 1979; Silver, 1995).

Cada línea consanguínea tiene entonces su conjunto particular de características, incluyendo el tipo de tumores espontáneos, la habilidad para aprender, la vida media, la producción de leche, la agresividad, la susceptibilidad a los agentes infecciosos, entre muchas otras. Por esto mismo, la elección de la línea más apropiada es una parte crítica del diseño y la planificación de un experimento. Existe un proyecto internacional conjunto abocado a establecer en ratón una colección de datos fenotípicos proveniente de las líneas consanguíneas más comunes y de aquellas genéticamente más divergentes. Este proyecto se conoce como “Mouse Phenome Database” (MPD) (Paigen y Eppig, 2000). La consulta de las siguientes páginas webs puede ayudar a los investigadores a elegir las líneas más indicadas para la elaboración de un protocolo experimental:

http://www.informatics.jax.org/external/festing/search_form.cgi

<http://aretha.jax.org/pub/cgi/phenome/mpdcgi?rtn=docs/home>

Dado que se trata de animales genéticamente idénticos, la uniformidad fenotípica de las líneas consanguíneas es otro rasgo importante que nos permite afirmar que la variabilidad en los parámetros experimentales se debe exclusivamente a factores no genéticos (ambientales o metodológicos).

Esta uniformidad nos permite lograr precisión estadística con muchos menos animales que los necesarios al trabajar con grupos no consanguíneos. Finalmente, la uniformidad hace posible la comparación de resultados experimentales entre animales de diferentes laboratorios y además, debido a su relativa estabilidad genética, a lo largo del tiempo.

A pesar de la existencia de cientos de líneas consanguíneas, la mayoría de los trabajos de experimentación se realizan usando las diez más populares; entre ellas: C57BL/6, BALB/c, FVB, 129, C3H y DBA/2. La línea C57BL/6 fue históricamente la más popular y actualmente la más usada como fondo genético (del inglés *genetic background*) en la creación de líneas congénicas (transgénicos y *knockout*). También fue la línea elegida por el “International Mouse Sequencing Consortium” para la secuenciación del genoma del ratón.

La línea FVB y las distintas sublíneas de 129 han adquirido gran popularidad en las últimas dos décadas debido a que son las más adecuadas para la producción de ratones transgénicos y *knockout*, respectivamente. En los últimos 25 años se han desarrollado una gran variedad de líneas consanguíneas a partir de animales capturados en estado salvaje. Entre las más utilizadas podemos nombrar: PWK/Ph, CAST/Ei, y SPRET/Ei (Silver, 1995; Guénet y Bonhomme, 2003).

En lo que respecta a la rata, entre las líneas consanguíneas más populares, se encuentran las F344, LEW, ACI, BN, WKY y PVG, entre otras. Se puede acceder a la última versión de las listas de líneas consanguíneas a través de diferentes recursos de Internet:

“Mouse Genome Informatics” (MGI):

<http://www.informatics.jax.org/>

“International Mouse Strain Resources”

(IMSR): <http://www.informatics.jax.org/imsr/index.jsp>

“Rat Genome Database” (RGD):

<http://rgd.mcw.edu/>

Como hemos visto en párrafos anteriores, la aparición constante de mutaciones, fenómeno que actúa en sentido opuesto a la consanguinidad, genera diversidad genética por la introducción de

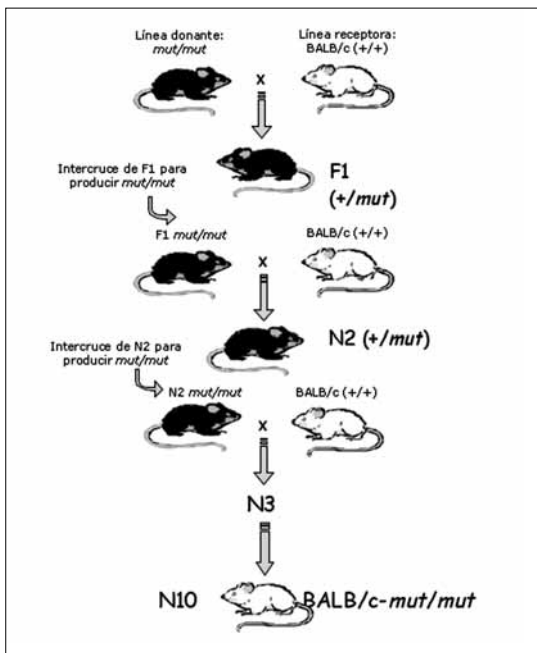


Figura 1. Esquema de retrocruzamientos seguido de intercruzamientos para la creación de una cepa BALB/c congénica portando una mutación recesiva fértil (*mut*). En cada generación, empezando por la F1, es necesario cruzar los heterocigotos *+/mut* para producir ratones *mut/mut*, los cuales son cruzados con BALB/c puros.

nuevos alelos. Debido a la presencia de estas mutaciones espontáneas y a un mínimo grado de heterocigosis residual se puede generar, con el tiempo, la divergencia de las líneas en sublíneas (subcepas). Una línea consanguínea se considera dividida en sublíneas cuando existen diferencias genéticas, conocidas o probables, en ramas separadas de la misma, según los siguientes casos: (i) cuando una línea se separa en ramas diferentes antes de la generación F40, por el fenómeno de heterocigosis residual; (ii) cuando la rama de una línea ha sido mantenida separada de otras por más de 20 generaciones, contando desde los ancestros comunes; y (iii) cuando se descubren diferencias genéticas con otras ramas de la misma línea, ya sea por mutaciones o contaminación genética.

Las diferencias acumuladas por mutaciones pueden tener, además, consecuencias patológicas para una línea, como ocurre en la sublínea C3H/HeJ. La misma porta una mutación en el cromosoma 4 que la hace insensible a la estimulación por lipopolisacáridos de bacterias gram negativas. Esta mutación se nombró como *Lps^d* (del inglés, *defective lipopolysaccharide response*) y ahora se sabe que

es una delección en el gen toll-like receptor 4 (Tlr4^{ps-d}). En cambio, otras sublíneas de C3H, como la C3H/HeN, llevan el gen normal (Tlr4⁺), hecho que las hace 20 veces más susceptibles a las endotoxinas bacterianas.

Otro ejemplo lo constituyen las sublíneas CBA/J y CBA/CaJ: la primera porta la mutación rd (*retinal degeneration*, nueva nomenclatura: Pde6brd) y por lo tanto queda ciega dentro del primer mes de vida, la segunda no tiene dicha mutación y por lo tanto su visión es normal.

Aquellos interesados en los orígenes de las líneas consanguíneas pueden consultar los siguientes libros y artículos: Morse, 1978; Festing, 1979; Hedrich, 1990; Atchley y Fitch, 1991; Silver, 1995; Simpson *et al.*, 1997; Beck *et al.*, 2000; Frazer *et al.*, 2007.

Los interesados en la genealogía de las líneas consanguíneas de ratones pueden descargar un póster ilustrativo de la página web del MGI: <http://www.informatics.jax.org/mgihome/genealogy/>.

Finalmente, es muy importante seguir en forma rigurosa la nomenclatura estándar para referirse a las líneas consanguíneas, los loci y los alelos. Las reglas de nomenclatura son acordadas por el “International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice” y el “Rat Genome and Nomenclature Comité”, y pueden consultarse en la siguiente dirección:

<http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml>.

LÍNEAS COISOGÉNICAS Y CONGÉNICAS

Dos líneas que son genéticamente similares (de la misma línea consanguínea), pero que difieren sólo en un *locus*, por ejemplo a causa de una mutación, se denominan coisogénicas. Esto puede suceder cuando la mutación (espontánea o inducida) ha ocurrido en una línea consanguínea. Por tanto, podemos especular que estos animales son idénticos, a excepción del *locus mutado*.

También existe la posibilidad de generar un análogo de las líneas coisogénicas transfiriendo (en inglés, *introgressing*), por medio de la reproducción se-

xual, la mutación de interés a un fondo genético determinado, normalmente una línea consanguínea estándar. Las líneas creadas por la introducción de una región cromosómica portando el gen de interés se denominan líneas congénicas (del inglés *congenic strains*). Estas líneas se obtienen por retrocruzamientos repetidos de la línea donante (la que porta la mutación o el transgén) con una línea consanguínea receptora, a través de, por lo menos 10 generaciones, llamadas sucesivamente N2, N3, N4 etc. En el caso de mutaciones recesivas, estas líneas se desarrollan por medio del esquema denominado cruce-intercruce, donde (durante el proceso de retrocruzamiento) un animal homocigoto para la mutación es siempre cruzado con un ejemplar puro de la línea de fondo (Fig. 1). De esta forma, el gen transferido se encuentra “sumergido” en un segmento cromosómico cuyo tamaño se reduce, generación tras generación, a causa de las recombinaciones cromosómicas. Existe una gran variedad de líneas coisogénicas y un número casi infinito de líneas congénicas potenciales ya que cualquier alelo puede ser introducido en un fondo genético diferente.

Es importante aclarar que en cada generación de retrocruzamiento se seleccionan, como futuros progenitores, sólo aquellas crías que han recibido el alelo mutado, de lo contrario corremos el riesgo de perderlo. En cada generación de retrocruzamiento el nivel de heterocigosis se reduce, en pro-

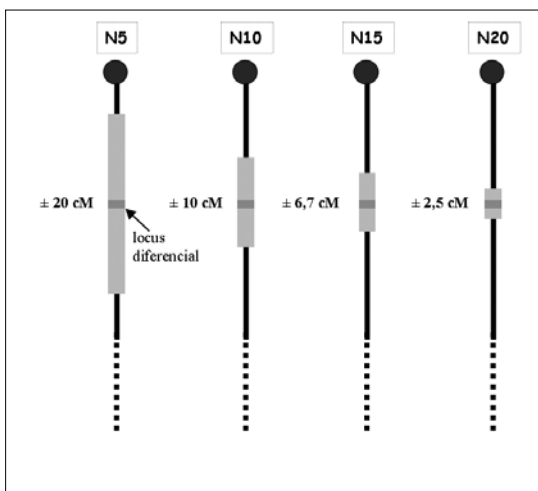


Figura 2. Esquema en el que se muestra la disminución del tamaño del segmento diferencial durante la creación de una línea congénica. A medida que realizamos los retrocruzamientos con la línea receptora, el tamaño del fragmento cromosómico introducido (rectángulo gris) es menor, siendo de, aproximadamente, 20 cM (10 cM a cada lado) en la generación N10 y de 5 cM (2,5 cM a cada lado) en la N20.

medio, un 50% y aumenta en la misma proporción el fondo genético de la línea receptora (esto se aplica sólo a los cromosomas que no portan la mutación). Respecto al segmento cromosómico que porta el *locus* diferencial, existe una aproximación estadística que indica que el mismo tendría, en promedio, un tamaño de 20 cM (10 cM a cada lado del locus diferencial) en la generación N10 y alrededor de 5 cM si llegamos hasta N20 (Fig. 2).

En términos prácticos, se puede estimar que el desarrollo de una línea congénica llevará de 4 a 5 años. Actualmente, es posible acortar mucho estos tiempos usando un sistema de cruces asistidos por marcadores genéticos conocido en inglés como *speed congenic* (Markel *et al.*, 1997; Wakeland *et al.*, 1997; Visscher, 1999; Wong, 2002). Esta metodología se basa en elegir, en cada generación de retrocruce, a aquellos progenitores que, portando el gen de interés, tengan la mayor proporción del genoma de la línea receptora (Figura 3). Esto se realiza por medio del uso de marcadores polimórficos (generalmente microsatélites o SNPs), que abarcan todos los cromosomas, basándose en la idea de que la proporción del genoma de la línea de fondo sigue una distribución normal. Por ejemplo, el promedio de esa proporción es del 50% en la N2, pero, en realidad, en un grupo de 100 ratones N2 existirán individuos con valores de 25% y otros de 75% del mismo fondo genético. Los retrocruces asistidos por marcadores buscan identificar estos animales con mayores proporciones de genoma receptor para ser usados como progenitores en la siguiente generación (Wolfer *et al.*, 2002; Collins *et al.*, 2003; Goto *et al.*, 2005; Armstrong *et al.*, 2006). Por ejemplo, realizando un genotipado de alta densidad (con marcadores espaciados cada 10 cM) a 40 ratones machos en cada generación, Wakeland y colaboradores obtuvieron un promedio de 0,1% de genoma dador “contaminante” en la generación N5. Este porcentaje subió a 0,4% cuando usaron los marcadores espaciados cada 25 cM (Wakeland *et al.*, 1997).

Las líneas congénicas son esenciales para estudiar el efecto de las mutaciones (sean espontáneas, inducidas o por manipulación genética), ya que permiten comparar animales en los que se han eliminado las diferencias en el fondo genético. La nomenclatura estándar para las líneas congénicas se puede consultar en la siguiente dirección:

<http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml#ccasis>

EFFECTOS DEL FONDO GENÉTICO SOBRE EL FENOTIPO

Ya a principios de los años 1970 se publicaron artículos que mostraban una gran diferencia en el fenotipo diabético de las mutaciones *diabetes* (*Lep^{db}*) y *obese* (*Lep^{ob}*), según estuvieran en fondo C57BL/KsJ (nueva nomenclatura C57BLKS/J) o C57BL/6J (Hummel *et al.*, 1972; Coleman y Hummel, 1973).

Más tarde, a mediados de la década de 1990, se reportó el gran efecto que tiene el fondo genético en el fenotipo del ratón *knockout* para el gen *Egfr* (*Epidermal growth factor receptor*): en fondo 129/Sv (129X1) los ratones homocigotos para la mutación nula mueren durante la gestación, mientras que en fondo CD-1 (grupo “exocriado”) los mutantes sobreviven hasta la tercera semana de vida, aunque presentan defectos en la piel, cerebro, hígado y tracto gastrointestinal (Threadgill *et al.*, 1995).

Otro caso de modificación del fenotipo según la cepa de fondo fue observado para la mutación espontánea inmunodeficiente *Prkdc^{scid}*, donde la tendencia a producir linfocitos B y T funcionales con la edad es muy variable: alta en BALB/c, baja en C3H, y muy baja en NOD (Shultz *et al.*, 1995). Sobre la base a estos hallazgos, empezó a prestarse más atención a la influencia que pueden tener los distintos fondos genéticos en los fenotipos (“Banbury Conference on Genetic Background in Mice” 1997; Montagutelli, 2000; Linder, 2001).

Desde finales de la década de 1990 se han publicado muchos datos sobre esta influencia, algunos ejemplos son: (i) distinto espectro de tumores espontáneos en ratones portando un alelo nulo del gen supresor de tumores *Trp53* según el fondo sea C57BL/6 o BALB/c (Kuperwasser *et al.*, 2000); (ii) diferencias entre las cepas SD, F344, Wistar y ACI en la carcinogénesis de próstata de ratas transgénicas expresando el antígeno T de SV40 (Asamoto *et al.*, 2002); (iii) variaciones en la incidencia y el espectro de tumores en ratones *knockout* (heterocigotos) para el gen supresor de tumor *Pten* en diversas cepas consanguíneas (Freeman *et al.*, 2006); (iv) diferencias en fenotipos de tumor mamario entre ratones transgénicos C57BL/6 y FVB/N cruzados con una línea *knockout* (Davie *et al.*, 2007); y (V) diferencias en fenotipos metabólicos entre ratones C57BL/6, 129S2, C3H, y BALB/c (Champy *et al.*, 2008). Para más información sobre este tema, puede solicitarse una copia gratuita del “Genetic Back-

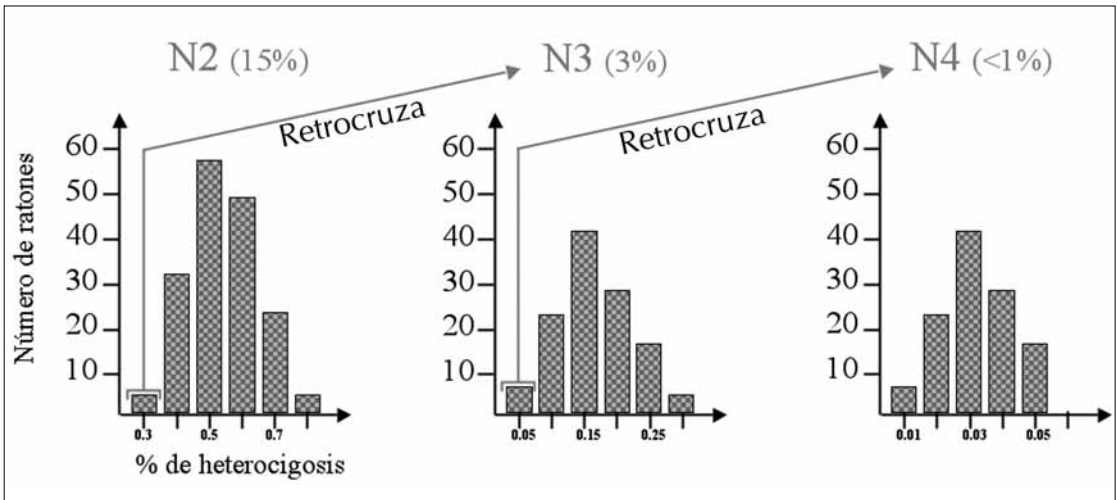


Figura 3. El método Åspeed congenicÅh intenta identificar, en cada generación, los animales con mayor proporción de genoma receptor, para ser usados como progenitores en la siguiente generación. En los gráficos se puede ver que los animales presentan en cada generación un menor porcentaje de heterocigosis en los marcadores analizados. Por ejemplo, en la generación N2 vemos que sólo el 30% de los animales son heterocigotos (15% de alelos del fondo donante).

ground Resource Manual” editado por “The Jackson Laboratory”

(<http://jaxmice.jax.org/geneticquality/background.html>).

CONTROLES DE CALIDAD GENÉTICA

Por todo lo que hemos expresado en relación con el fondo genético, es muy recomendable establecer controles en las colonias de roedores consanguíneos, para que los resultados sean reproducibles y tengan validez científica (Festing, 1990). A lo largo de los últimos 30 años, se han publicado muchos casos de líneas de ratas y ratones genéticamente contaminadas (no auténticas), con la correspondiente pérdida de tiempo y dinero (Kahan *et al.*, 1982; Kurtz *et al.*, 1989).

El control genético es un conjunto de técnicas que nos permite verificar si los animales que estamos utilizando aún conservan las características genéticas originales de la línea a la que pertenecen, o si han sufrido algún cambio debido a cruzamientos accidentales.

Se han usado una gran variedad de técnicas a lo largo de los años para evaluar la calidad genética de las líneas consanguíneas (Hedrich, 1990). Todas ellas han estado basadas en el supuesto de que cada línea es homocigota para todos los loci del genoma, y de que los individuos pertenecientes a la misma tienen

exactamente la misma constitución genética. En todos los casos, lo esencial es definir un patrón específico para cada línea (Benavides y Guénet, 2005). Obviamente, las mismas técnicas pueden usarse para caracterizar el fondo genético de una línea congénica. Si bien el análisis electroforético de proteínas y enzimas con distinta carga eléctrica (marcadores bioquímicos) fue muy popular en las décadas de 1970 y 1980, hoy en día, la mayoría de las técnicas de control genético de líneas se basa en la tipificación de ADN. Este tipo de análisis puede realizarse con técnicas tales como la amplificación de microsátélites por PCR o la determinación de polimorfismos SNPs (del inglés, *single nucleotide polymorphism*).

Se conoce como microsátélites o SSLP (*Simple Sequence Length Polymorphisms*) a las secuencias de ADN repetitivo conteniendo un motivo de repetición de 1 a 6 nucleótidos, aunque los más comunes son los dinucleótidos del tipo (CA)_n o (TA)_n (Love *et al.*, 1990). El número de repeticiones comprende un rango de entre 15 y 40, lo que facilita la posibilidad de amplificación de estos pequeños segmentos por medio de la técnica de PCR, usando cebadores (*primers*) que flanquean la repetición. El uso de los microsátélites en controles de calidad genética presenta varias ventajas. Primera, estos marcadores genéticos son muy polimórficos entre las cepas de roedores de laboratorio y por lo tanto resulta fácil la selección de un juego de microsátélites para controlar un grupo de líneas. Segunda,

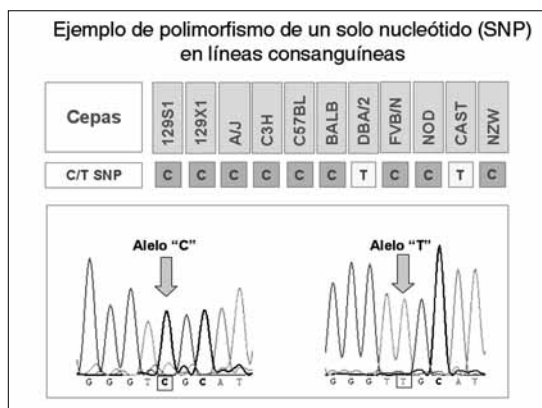


Figura 4. Detección de un polimorfismo C/T, donde la mayoría de las cepas portan el alelo C (homocigotos C/C). Por otro lado, las cepas DBA/2 y CAST llevan el alelo T (homocigotos T/T).

hay más de 8.000 *loci* de microsatélites de los cuales se conoce la secuencia de los cebadores específicos para la amplificación por PCR, así como el tamaño de los productos para las cepas más populares de rata y ratón. Por último, todos los microsatélites pueden ser analizados con el mismo protocolo y a partir de cantidades ínfimas de ADN. Este método de control de calidad ha sido adoptado por muchos animalarios por ser fácil de realizar, rápido y económico (Wood *et al.*, 1996; Mashimo *et al.*, 2006).

En la actualidad, la combinación de cebadores fluorescentes con electroforesis capilar ofrece una alternativa más rápida, aunque más costosa, y ofrece, además, la posibilidad de realizar reacciones con varios *primers* simultáneamente (*multiplex PCR*; Bryda y Riley, 2008).

Más allá de que los microsatélites sean o no marcadores idóneos para el control genético, no son los únicos disponibles para tal fin. La nueva era en los controles de calidad genética es la utilización de los marcadores SNPs. Los SNP's, o "snips", como se lo suele pronunciar en inglés, están determinados por la presencia de una base variante en cualquier sitio del genoma y constituyen la forma más común de polimorfismo genético (Figura 4). Los encontramos tanto dentro de secuencias anónimas de ADN, como en secuencias codificantes y presentan en general dos alelos. Su enorme frecuencia, calculada empíricamente como 1 SNP por cada 500-700 pares de bases entre las líneas clásicas de ratones, los convierte en marcadores genéticos ideales para controles de calidad. En particular, esto se ve favorecido por la aparición de métodos de ge-

notipado automático, basados en PCR convencional, PCR en tiempo real y microchips de ADN, que permiten analizar miles de muestras a la vez. Por ejemplo, Petkov y colaboradores ("The Jackson Laboratory", Maine, Estados Unidos) describieron recientemente la distribución alélica de 235 SNPs en 48 líneas consanguíneas e idearon un programa de control genético que incluye 28 de esos SNP's especialmente seleccionados para distinguir sus casi 300 líneas consanguíneas clásicas, salvajes, congénicas, consómicas, y recombinantes (Petkov *et al.*, 2004).

Finalmente, hay que tener presente que el control genético debe llevarse a cabo en un contexto amplio que incluya parámetros simples, y no conformarse solamente con el hecho de estar usando técnicas moleculares sofisticadas. Por ejemplo, la observación directa de los individuos pertenecientes a una línea consanguínea es siempre una fuente importante de información, ya que el fenotipo externo de estos animales debe ser totalmente homogéneo.

Como acabamos de ver, existen técnicas muy eficaces a la hora de tener que controlar la pureza genética de los animales. No obstante, una vez que una colonia es reconocida como genéticamente contaminada la situación ya es irreversible: todos los individuos de la colonia deben ser sacrificados y un nuevo núcleo reproductor debe ser iniciado con animales de origen certificado. Las consecuencias dramáticas de una contaminación de este tipo nos fuerzan a tomar medidas para que no ocurra de nuevo.

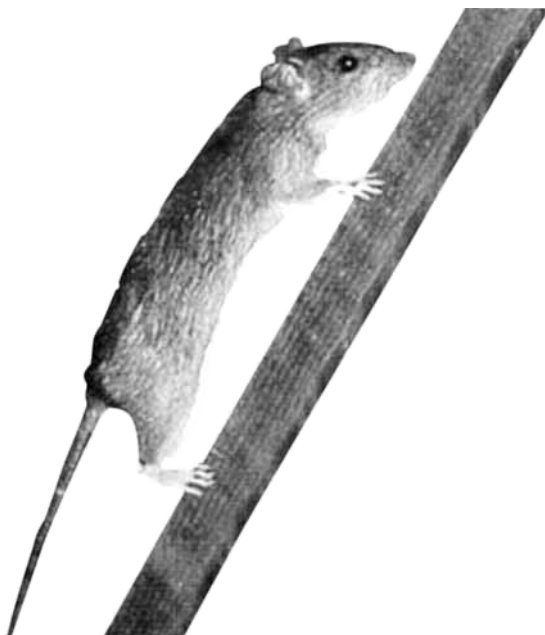
Básicamente existen dos formas de prevenirlo: congelación de embriones y células germinales (Glenister y Thornton, 2000; Sztein *et al.*, 2000) y aislamiento físico de las colonias de reproducción.

BIBLIOGRAFÍA

- ARMSTRONG NJ, BRODNICKI TC, SPEED TP. *Mind the gap: analysis of marker-assisted breeding strategies for inbred mouse strains*. *Mammalian Genome* 2006; 17: 273-287.
- ASAMOTO M, HOKAIWADO N, CHO YM, ET AL. *Effects of genetic background on prostate and taste bud carcinogenesis due to SV40 T antigen expression under probasin gene promoter control*. *Carcinogenesis* 2002; 23: 463-467.

- ATCHLEY W, FITCH W. *Genes trees and the origins of inbred strain of mice*. Science 1991; 254: 554-558.
- BANBURY CONFERENCE ON GENETIC BACKGROUND IN MICE. *Mutant Mice and Neuroscience: recommendations concerning genetic background*. Neuron 1997; 19, 755-759.
- BECK JA, LLOYD S, HAFEZPARAST M, ET AL. *Genealogies of mouse inbred strains*. Nature Genetics 2000; 24: 23-25.
- BENAVIDES F, GUÉNET J-L. *Manual de Genética de Roedores de Laboratorio. Principios Básicos y Aplicaciones*. Laboratory Animals Ltd., London, U.K., SECAL y Universidad de Alcalá, Madrid, España, 2003.
- BENAVIDES F, GUÉNET J-L. *Quality control in laboratory rodents*. En: Molecular Diagnostics. Patrinos GP y Ansorge W (Eds.). Elsevier, Netherlands, 2005.
- BENAVIDES F, GUÉNET J-L. *Tipos de modelos experimentales en función de su condición genética*. En: Ciencia y Tecnología del Animal de Laboratorio (Vol. I). Zúñiga JM, Orellana JM y Tur JA. SECAL y Universidad de Alcalá, Madrid, España, 2008.
- BRYDA EC, RILEY LK. *Multiplex microsatellite marker panels for genetic monitoring of common rat strains*. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science 2008; 47: 37-41.
- CHAMPY MF, SELLOUM M, ZEITLER V, ET AL. *Genetic background determines metabolic phenotypes in the Mouse*. Mammalian Genome 2008; 19: 318-331.
- COLEMAN DL, HUMMEL KP. *The influence of genetic background on the expression of the obese (ob) gene in the mouse*. Diabetología 1973; 9: 287-93.
- COLLINS SC, WALLIS RH, WALLACE K, ET AL. *Marker-assisted congenic screening (MACS): a database tool for the efficient production and characterization of congenic lines*. Mammalian Genome 2003; 14: 350-356.
- DAVIE SA, MAGLIONE JE, MANNER CK, ET AL. *Effects of FVB/NJ and C57Bl/6J strain backgrounds on mammary tumor phenotype in inducible nitric oxide synthase deficient mice*. Transgenic Research 2007; 16: 193-201.
- FESTING MF. *Inbred strains in biomedical research*, Macmillan Press, London: Oxford University Press, New York, 1979.
- FESTING MF. *Introduction to genetic monitoring*. Scandinavian Journal of Laboratory Animals Science 1990; 17: 119-125.
- FOX JG, BARTHOLD SW, DAVISSON MT, NEWCOMER CE, QUIMBY FW, SMITH AL (Eds). *The Mouse in Biomedical Research*, Vol I. Second edition, Academic Press, New York, 2006.
- FRAZER KA, ESKIN E, KANG HM, ET AL. *A sequence-based variation map of 8.27 million SNPs in inbred mouse strains*. Nature 2007; 448: 1050-1053.
- FREEMAN D, LESCHE R, KERTESZ N, ET AL. *Genetic background controls tumor development in PTEN-deficient mice*. Cancer Research 2006; 66: 6492-6496.
- GLENISTER PH, THORNTON CE. *Cryoconservation-archiving for the future*. Mammalian Genome 2000; 11: 565-571.
- GOTO K, EBUKURO M, ITOH T. *Microsatellite-directed selection of breeders for the next backcross generation by using a minimal number of loci*. Comparative Medicine 2005; 55: 34-36.
- GUÉNET J-L, BONHOMME F. *Wild mice: an ever-increasing contribution to a popular mammalian model*. Trends in Genetics 2003; 19: 24-31.
- HEDRICH H. *Genetic monitoring of inbred strains of rats*. Stuttgart, New York. Gustav Fischer Verlag, 1990.
- HUMMEL KP, COLEMAN DL, LANE PW. *The influence of genetic background on expression of mutations at the diabetes locus in the mouse*. Biochemical Genetics 1972; 7: 1-13.
- KAHAN B, AUERBACH R, ALTER B, ET AL. *Histocompatibility and isoenzyme differences in commercially supplied BALB/c mice*. Science 1982; 217: 379-381.
- KUPERWASSER C, HURLBUT GD, KITRELL FS, ET AL. *Development of spontaneous mammary tumors in BALB/c p53 heterozygous mice. A model for Li-Fraumeni syndrome*. American Journal of Pathology 2000; 157: 2151-2159.
- KURTZ T, MONTANO M, CHAN L, ET AL. *Molecular evidence of genetic heterogeneity in Wistar-Kyoto rats: Implications for research with Spontaneously Hypertensive Rat*. Hypertension 1989; 13: 188-192.

- LINDER CC. *The influence of genetic background on spontaneous and genetically engineered mouse models of complex diseases.* Lab Animal (NY) 2001; 30: 34-39.
- LOVE J, KNIGHT A, MC ALEER M, ET AL. *Towards construction of a high resolution map of the mouse genome using PCR-analyzed microsatellites.* Nucleic Acids Research 1990; 18: 4123-4130.
- MARKEL P, SHU P, EBELING C, ET AL. *Theoretical and empirical issues for marker-assisted breeding of congenic mouse strains.* Nature Genetics 1997; 17: 280-284.
- MASHIMO T, VOIGT B, TSURUMI T, ET AL. *A set of highly informative rat simple sequence length polymorphism (SSLP) markers and genetically defined rat strains.* BMC Genetics 2006; 7: 19-26.
- Montagutelli X. *Effect of the genetic background on the phenotype of mouse mutations.* Journal of the American Society of Nephrology 2000; 11: S101-S105.
- MORSE III, H. *Origins of Inbred Mice.* Academic Press, New York, 1978. (Versión online disponible en <http://www.informatics.jax.org/morsebook/>)
- PAIGEN K, EPPIG JT. *A mouse phenome project.* Mammalian Genome 2000; 11: 715-717.
- PETKOV PM, CASSELL MA, SARGENT EE, ET AL. *Development of a SNP genotyping panel for genetic monitoring of the laboratory mouse.* Genomics 2004; 83: 902-911.
- SHULTZ LD, SCHWEITZER PA, CHRISTIANSON SW, ET AL. *Multiple defects in innate and adaptive immunologic function in NOD/LtSz-scid mice.* Journal of Immunology 1995; 154: 180-191.
- SILVER L. M. (ED.) *Mouse Genetics. Concepts and applications.* Oxford University Press, Oxford, 1995. (Versión online disponible en <http://www.informatics.jax.org/silver/>).
- SIMPSON EM, LINDER CC, SARGENT EE, ET AL. *Genetic variation among 129 substrains and its importance for targeted mutagenesis in mice.* Nature Genetics 1997; 16: 19-27.
- STEVENS JC, BANKS GT, FESTING MF, ET AL. *Quiet mutations in inbred strains of mice.* Trends in Molecular Medicine 2007; 13: 512-519.
- SZTEIN JM, FARLEY JS, MOBRAATEN LE. *In vitro fertilization with cryopreserved inbred mouse sperm.* Biology of Reproduction 2000; 63: 1774-1780.
- THREADGILL DW, DLUGOSZ AA, HANSEN LA, ET AL. *Targeted disruption of mouse EGF receptor: effect of genetic background on mutant phenotype.* Science 1995; 269: 230-234.
- VISSCHER PM. *Speed congenics: accelerated genome recovery using genetic markers.* Genetic Research 1999; 74: 81-85.
- WAKELAND E, MOREL L, ACHEY K, ET AL. *Speed congenics: a classic technique in the fast lane (relatively speaking).* Immunology Today 1997; 10: 472-477.
- WOLFER DP, CRUSIO WE, LIPP HP. *Knock-out mice: simple solutions to the problems of genetic background and flanking genes.* Trends in Neuroscience 2002; 25: 336-340.
- WONG GT. *Speed congenics: applications for transgenic and knock-out mouse strains.* Neuropeptides 2002; 36: 230-236.
- WOOD PA, HAMM DA, CARTNER SC, ET AL. *Simple sequence length polymorphism analysis of mice for genetic monitoring.* Contemporary Topics in Laboratory Animal Science 1996; 35: 60-62.



6 ¿Y tú qué OPINAS?

EN ESTA SECCIÓN DESCRIBIMOS CASOS CLÍNICOS O PRÁCTICOS
“INTERACTUANDO” CON EL LECTOR.

TODOS LOS SOCIOS ESTÁN INVITADOS A PARTICIPAR APORTANDO SUS CASOS

CONTACTO: JOSÉ LUIS MARTÍN BARRASA; jimbarrasa@terra.es

CASO 1

ALIMENTAR CACHORROS CON FISURA PALATINA COMPLETA

*M^{ca} Cruz Rodríguez Bobada
Pablo Antonio González López*

Hospital Veterinario de Pequeñas Especies de la Universidad Autónoma del Estado de México

*Elena Martínez Sanz
Yamila López Gordillo*

Facultad de Medicina de la Universidad Complutense, Madrid

Unos investigadores realizan un estudio sobre el desarrollo de la fisura palatina. Para ello, utilizan perros de raza Pachón Navarro, de nariz partida, que presentan una incidencia del 15% en la aparición de esta patología, de forma congénita (Figura 1).

La mayoría de los cachorros que presentan esta enfermedad fallecen tras el nacimiento, por lo que se han ideado modificaciones en las técnicas de alimentación de los cachorros.

En primer lugar, realizaron un estudio en tres cachorros de una semana de raza Braco Alemán sin fisura palatina. Estos cachorros fueron alimentados con biberones y tetinas para la lactancia de gatos y, aunque la alimentación fue muy laboriosa, en los tres casos se consiguió la supervivencia de los animales.

Posteriormente, ya en perros con el paladar fisurado, utilizaron biberones y tetinas para la alimentación de perros normales. Con estas tetinas, el animal podía succionar, pero con muchas dificultades, de forma que a los pocos días se produjo su fallecimiento, presentando anorexia, debilidad y síntomas de neumonía por aspiración.

Con estos resultados, se vio necesaria la búsqueda de otras alternativas para la alimentación de los cachorros con fisura palatina.

Tras el nacimiento, se les practicó una impresión del paladar con el fin de crear una prótesis palatina que impidiera el paso de contenido líquido a la cavidad nasal. La prótesis fue fijada mediante pegamento utilizado para adherir las prótesis odontológicas.

gicas a la encía. Nuevamente los resultados no fueron satisfactorios. Los animales fueron rechazados por la madre y, utilizado tan tempranamente, la in-

gestión de restos de pegamento odontológico dio lugar a una diarrea hemorrágica que acabó con la vida de éstos.



¿Y TÚ QUÉ OPINAS?:

1. ¿Sería adecuado alimentar a los cachorros con sonda?
2. ¿Es adecuado alimentar a estos cachorros con lactancia materna?
3. ¿Es preciso utilizar lactancia artificial?



SOLUCIÓN:

Estos animales no sobreviven con lactancia materna. Tampoco creemos adecuado alimentarlos con sonda, puesto que se trata de un método bastante agresivo, sobre todo en estudios prolongados, y no favorece el desarrollo de la articulación temporomandibular, ni de la musculatura que la mueve.

Una forma más refinada y adecuada para hacerlo es utilizar tetinas diseñadas individualmente. Para ello, se realiza una impresión del paladar del cachorro al nacimiento, a partir del cual se obtiene un molde en escayola (Fig. 2). Por otra parte, partiendo de tetinas de perro estándar, se obtienen moldes de silicona cuyo extremo se modela para adaptarlo perfectamente al molde de escayola del paladar (Fig. 3). Seguidamente, mediante una máquina de termovació (Fig. 4), se obtiene una tetina de material plástico termomoldeable que reproduce exactamente el molde de silicona de la tetina a medida (Fig. 5). La ventaja de esta tetina a medida es que durante cada movimiento de succión cierra perfectamente la fisura.

Estas tetinas así confeccionadas se adaptan a cualquier biberón. Deben ser rehechas dos o tres veces durante la lactancia para adaptarse al crecimiento maxilar del animal. Ésta es la mejor manera de evitar las muertes debidas a neumonía por aspiración producidas por el paso a la vía aérea de la leche maternizada. Además, la utilización de esta tetina favorece un adecuado crecimiento craneomandibular en el cachorro.



Figura 1. Detalles de la fisura palatina en un perro de raza Pachón Navarro.



Figura 2. Impresión del paladar del cachorro (izda.) y posterior molde en escayola (dcha.)



Figura 3. Molde de silicona de la tetina. Su extremo se modela para adaptarlo perfectamente al molde en escayola del paladar.



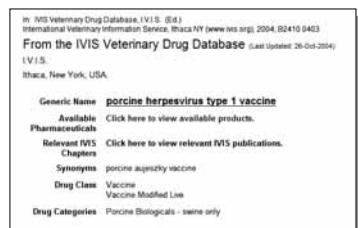
Figura 4. Máquina de termovació (izquierda), con detalle de la fabricación de la tetina en material plástico (derecha).



Fig. 5.: Tetinas definitivas de diferentes tamaños según crecimiento del cachorro.

7 Páginas WEB

INTERNATIONAL VETERINARY INFORMATION SERVICE



WWW.IVIS.ORG

Isabel Clara Rollán Delgado

Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid

“Leading the way in providing the veterinary information”. Éste es el lema con el que se presenta el Servicio Internacional de Información Veterinaria (“International Veterinary Information Service”; IVIS).

El objetivo que se plantearon sus fundadores, era el de mantener un espacio web donde mostrar publicaciones relevantes, actualizadas y de manera gratuita para todo aquel que desarrolla su actividad en sanidad animal. Inicialmente se ideó para veterinarios y estudiantes, aunque también es apto para cualquiera relacionado con esta área. Actualmente incluye más de 1.600 documentos (entre libros, artículos, memorias de congresos, etc.).

Abarca multitud de especies: desde los tradicionales “animales de laboratorio”, hasta grandes especies como equinos, bovinos, camélidos, etc. De ahí que se incluya en el presente número de la revista.

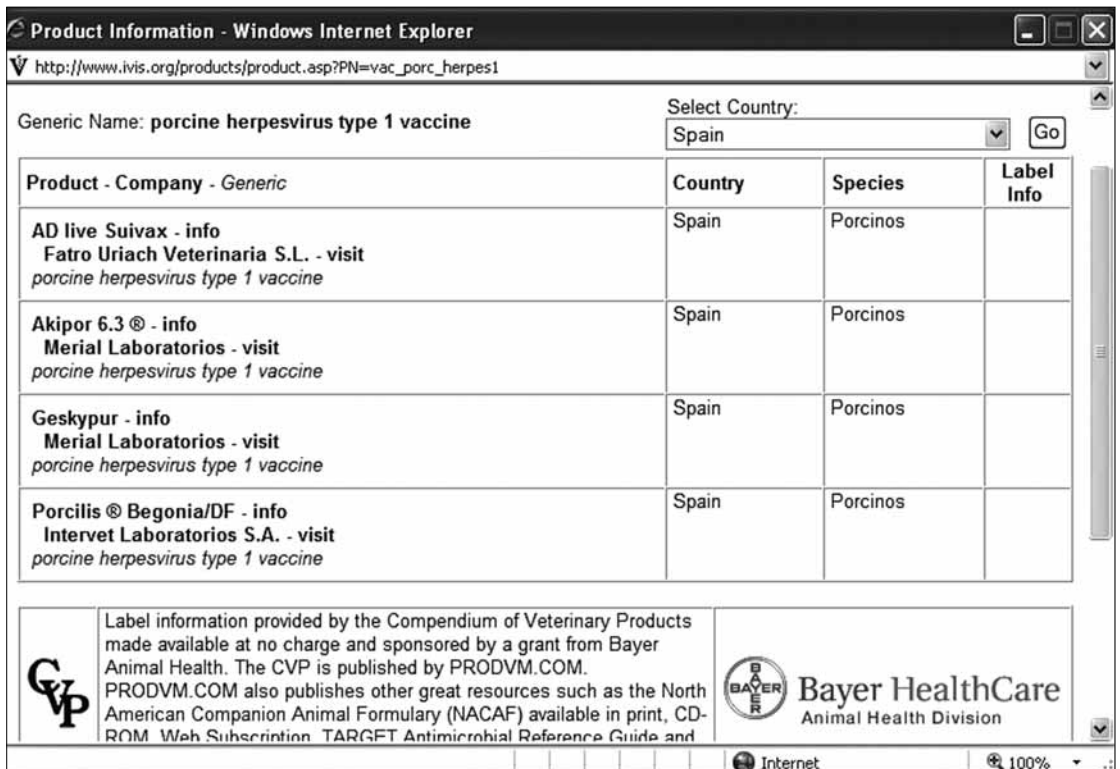
Los artículos son escritos y revisados por veterinarios y/o científicos, nacionales e internacionales, de reconocido prestigio en sus distintas especialidades. IVIS desarrolla una gran labor a la hora de traducir muchos de estos manuscritos al español; para ello, se ha organizado un grupo de trabajo. Por parte de España, uno de los traductores es C. Gutiérrez (de la Facultad de Veterinaria de las Palmas). Aquellos manuscritos relevantes, también lo traducen a otros idiomas, como el francés, italiano, portugués alemán, ruso y sueco.

El lema del encabezamiento podría parecer pretencioso y bastante comercial, pero aquel que navega y profundiza en la web advierte que verdaderamente es así.

Aunque sus comienzos datan de 1998 (Ithaca, Nueva York), no fue hasta el año 2000, cuando la web de esta organización sin ánimo de lucro estuvo disponible. A final de año ya contaba con unos 3.200 usuarios registrados. Poco a poco fueron desarrollando nuevas secciones que resultaron de interés general. Este proyecto ha ido creciendo, como era de esperar, gracias al apoyo de instituciones, organismos, empresas, y de particulares que a través de sus aportaciones (ya sean económicas o intelectuales), hacen posible que IVIS siga existiendo.

En 2007 ya contaba con más de 200.000 personas registradas y a día de hoy, continúa expandiéndose. Anualmente, IVIS anima a sus miembros a que realicen una aportación voluntaria (según su actividad profesional), ya que continuar con este trabajo, a parte de plena dedicación, acarrea una serie de costes. Lo que si tienen muy claro es que van a seguir manteniendo el acceso gratuito a su biblioteca “on-line”. En la web, publican una lista con los nombres de todos aquellos que gracias a su aportación, permiten que esta página se mantenga.

El proceso de alta como usuario es bastante sencillo y rápido. Únicamente hay que especificar una dirección de mail, su relación con el mundo de la sanidad animal y aquellos temas que le resulten de in-





Product Information - Windows Internet Explorer
 http://www.ivis.org/products/product.asp?PN=vac_porc_herpes1

Generic Name: porcine herpesvirus type 1 vaccine

Select Country: Spain Go

Product - Company - Generic	Country	Species	Label Info
AD live Suivax - info Fatro Uriach Veterinaria S.L. - visit <i>porcine herpesvirus type 1 vaccine</i>	Spain	Porcinos	
Akipor 6.3® - info Merrial Laboratorios - visit <i>porcine herpesvirus type 1 vaccine</i>	Spain	Porcinos	
Geskypur - info Merrial Laboratorios - visit <i>porcine herpesvirus type 1 vaccine</i>	Spain	Porcinos	
Porcilis® Begonia/DF - info Intervet Laboratorios S.A. - visit <i>porcine herpesvirus type 1 vaccine</i>	Spain	Porcinos	

Label information provided by the Compendium of Veterinary Products made available at no charge and sponsored by a grant from Bayer Animal Health. The CVP is published by PRODVM.COM. PRODVM.COM also publishes other great resources such as the North American Companion Animal Formulary (NACAF) available in print, CD-ROM Web Subscription TARGET Antimicrobial Reference Guide and

  Bayer HealthCare
 Animal Health Division

Internet 100%

terés dentro de una amplia lista aportada. El perfil puede modificarse tantas veces como sea necesario.

La página principal se encuentra estructurada de la siguiente manera:

- El marco de la derecha se reserva para anunciar publicaciones recientes, próximos congresos o jornadas, cursos de formación, etc.
- La parte central engloba los “puntos fuertes” de la página y otras secciones que resultan no menos curiosas, con apartados tales como la cita del día, tiras cómicas, noticias de última hora, imagen de la semana, tema de la semana, en la que, centrándose en una idea, rescata citas notables que tengan que ver con el tema propuesto. La frecuencia de renovación (semanal), también es importante, ya que es un indicio de que hay bastante información de la que hacer uso. En otro de los apartados presentan, uno a uno, a aquellos autores que contribuyen con su trabajo al mantenimiento de IVIS. El hecho de que muchas casas comerciales elijan esta página para anunciar sus productos, da también una idea de que es muy visitada.

- El marco de la izquierda dirige a muchos de los apartados propuestos en la zona central, aunque está mucho más estructurado. Como cualquier página que se precie hace una mención a sus inicios, objetivos, miembros fundadores, etc. El apartado “My IVIS” facilita enormemente la gestión de nuestro perfil como miembros de IVIS, ofreciendo por ejemplo herramientas tales como cambio de contraseña o de correo electrónico, suscripción al boletín de noticias, e incluso gestión de bajas. Normalmente, en otras páginas, esto se realiza a través de un contacto.

Como he mencionado anteriormente, en la parte superior central se localizan las tres secciones con más contenido de la página web:

- El calendario de eventos.
- La biblioteca “on-line”.
- El motor de búsqueda.

El calendario de eventos muestra congresos o jornadas que han tenido lugar en los dos últimos años. Al pinchar sobre el enlace, dirige a un apartado con resúmenes de las distintas ponencias. Invi-

tan a todos los miembros a que comuniquen cualquier jornada de interés. Los congresos que tendrán lugar durante el 2009, se anuncian en el apartado “Noticias”. Ofrece la posibilidad de realizar una búsqueda selectiva rellenando cualquiera de los siguientes apartados: país donde tendrá lugar el acontecimiento, especie/s, entidad organizadora y tipo de evento.

Lo más destacable es sin duda la biblioteca “on-line”; verdaderamente sensacional. Posiblemente, aquellos libros, revistas o documentos relacionados con el ámbito veterinario que no se encuentren en esta web, difícilmente se encontrarán en otro sitio.

Igualmente notable es la base de datos de fármacos del IVIS (“Drug Database”). Muestra por cada producto, entre otros datos, el nombre genérico, marcas comerciales según los distintos países y un listado de las publicaciones más relevantes donde aparece el medicamento en cuestión.

Por otro lado, IVIS mantiene acuerdos con librerías “on-line”, del tipo “Teton NewMedia” o “Amazon”, ofreciendo a sus miembros un 10% de descuento en cada compra. Estas librerías son, a su vez, patrocinadores del Servicio de Información.

En cuanto al motor de búsqueda, no son necesarios más comentarios: como cualquier otro, al seleccionar el tipo de documento y las palabras claves, aparecen las referencias buscadas.

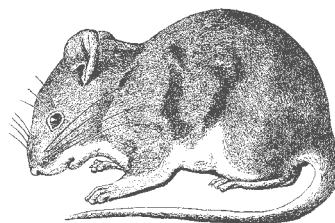
Otra de los apartados interesantes de esta página es la amplia oferta de cursos “on-line” que realizan; de temática muy diversa. Estos son algunos ejemplos: principios de anestesiología en veterinaria, asistencia a grandes animales, endocrinología en perros y gatos, principios básicos en radiología, orientación laboral, principios básicos en farmacología y otros tantos relacionados con el animal de laboratorio. Parte de los cursos ofertados (todos ellos homologados por la autoridad competente), pertenecen al propio programa del IVIS, y otros, son externos. Los temas de los cursos impartidos por el IVIS los elabora un grupo de expertos que conforman el denominado “VetMedTeam”. Los cursos están dirigidos tanto a estudiantes que precisan una formación más específica, como para profesionales con inquietudes. Es divertida la forma en la que los promocionan, diferente a cuando visitas una página web europea; son más sensacionalistas, llegando a mostrar incluso testimonios de per-

sonas que han pasado por un curso similar en una convocatoria anterior.

¡Bravo por estas páginas tan completas y de acceso libre! Porque verdaderamente cumplen el objetivo propuesto: compartir información con profesionales y estudiantes en todo el mundo. No cabe duda de que estos proyectos tan interesantes se mantienen porque son necesarios (aunque con gran esfuerzo por parte de todos los que lo hacen posible, que son muchos). Es un Servicio de Información de referencia. No es de extrañar que sus responsables, orgullosos, lo presenten como el mayor recurso veterinario “on-line” del mundo.



A su nivel, hay sociedades como la SECAL, que contribuyen a este intercambio de información, ya sea por cualquiera de sus vías: página web, revista, o foro SECAL-L. Sirvan estas líneas para agradecer a aquellas personas que nos colman de buenos consejos, recomendando manuales, otras fuentes de información e incluso su propia experiencia. Agradezco en este caso especialmente, a Ignacio Álvarez, que fue quien me recomendó esta página.



8 SEGURIDAD 5 en 5 minutos

Os presentamos una nueva sección, en la que pretendemos comentar de forma breve y aplicativa los principales temas relacionados con la Prevención de Riesgos Laborales en nuestro sector.

Para elaborar futuros temas contamos con vuestra participación. En este sentido hemos publicado en la página web de SECAL una encuesta sobre satisfacción en el trabajo, para conocer, evaluar e intentar mejorar las condiciones de trabajo en nuestro contexto profesional.

Os animamos a rellenarla y hacérmola llegar (jesus.martinez@ciemat.es; CIEMAT – Servicio de Animalario – Avenida Complutense 22 Edificio 7 – 28040 Madrid; FAX 91 3466484)

Muchas gracias y esperamos que esta contribución sea de vuestro agrado.

*Ricardo Vera Rodríguez – Jesús Martínez Palacio
Técnicos Superiores en Prevención de Riesgos Laborales
Responsables de la Sección*

MANIPULACIÓN MANUAL DE CARGAS

La manipulación manual de cargas es una tarea habitual en todo tipo de sectores, siendo una de las causas más frecuentes de accidentes laborales (entre el 20 y el 25 % del total). Así, esta actividad puede ser el origen, en muchos casos, de la aparición de fatiga física o bien de daños diversos como contusiones, cortes, heridas, fracturas y lesiones músculo-esqueléticas en zonas sensibles como son hombros, brazos, manos y espalda.

El trabajo con animales de laboratorio no está exento de los riesgos originados por la manipulación de cargas. En laboratorios de experimentación y animalarios es frecuente el manejo de cargas, tales como jaulas, sacos de viruta o de piensos, carros de transporte, etc.; todos ellos con pesos que van desde 2 a 12 kilos, y alguno con formas de difícil agarre.

Toda manipulación de cargas con un peso mayor

de 3 kilos puede ocasionar lesiones dorso-lumbares, estando este tipo de riesgo asociado a factores como:

- Características de la carga: demasiado pesada, voluminosa o difícil de sujetar, contenido inestable, etc.
- Esfuerzo físico necesario: demasiado importante, necesaria la torsión o flexión del tronco, etc.
- Características del medio de trabajo: espacio insuficiente, suelo irregular, inestable, resbaladizo o con desniveles, etc.
- Exigencias de la actividad: esfuerzos frecuentes o prolongados, ritmos de trabajo impuestos, reposo insuficiente, distancias grandes de elevación, descenso o transporte, etc.
- Factores individuales de riesgo: falta de aptitud física, falta de formación adecuada, existencia previa de patologías dorso-lumbares, etc.

En general, todas las cargas que se manipulen deben tener un peso inferior a 25 kg en condiciones ideales de manipulación y, en el caso de mujeres, jóvenes y personas mayores, no deberán sobrepasar los 15 kg. Si la postura de trabajo es sentado, el peso máximo recomendado será de 5 kg, siempre que sea en una zona próxima al tronco, evitando manipular cargas al nivel del suelo o por encima del nivel de los hombros y giros e inclinaciones del tronco. En trabajos esporádicos de manipulación de cargas, para un trabajador sano y entrenado, el peso permitido puede llegar hasta los 40 kg.

Para una correcta manipulación manual de cargas, recuerda:

- **Examina la carga antes de manipularla.** Sigue las indicaciones que aparezcan en el embalaje en lo relativo a inestabilidad, contenido, posibles riesgos, etc. Si no aparece indicación alguna, observa la carga, prestando especial atención a su forma, tamaño, posible peso, zonas de agarre, posibles puntos peligrosos (aristas, puntas de clavos, etc.).
- Si es necesario, **acondiciona la carga** de forma que se impidan los movimientos del contenido.
- **Planifica el levantamiento:** decide el punto o puntos de agarre más adecuados, ruta de transporte, dónde hay que depositar la carga, etc. Aparta del trayecto cualquier elemento que pueda interferir en el transporte.
- **Usa la vestimenta, el calzado y los equipos adecuados.** Los equipos de protección individual como gafas, guantes, máscaras, etc. no deberán interferir en la capacidad de realizar movimientos, no impedirán la visión, ni disminuirán la destreza manual.
- Sigue las **cinco reglas básicas** en el momento de levantar la carga: separa los pies hasta conseguir una postura estable; dobla las rodillas; acerca al máximo el objeto al cuerpo; levanta el peso gradualmente y sin sacudidas y no gires el tronco mientras se está levantando la carga (es preferible pivotar sobre los pies).
- **Solicita la ayuda** de otra persona siempre que el objeto tenga, con independencia de su peso, al menos dos dimensiones superiores a 76 cm; cuando el peso sea superior a 30 kg y cuando el objeto sea muy largo y no puedas trasladarlo de forma estable.

- **Sitúa la carga en el lugar más favorable para su posterior manipulación:** cerca de ti, enfrente y a la altura de la cadera.
- **Utiliza ayudas mecánicas, siempre que sea posible.** En los alcances a distancias importantes puedes usar ganchos o varas. Evita hiperextensiones del tronco colocando escaleras o tarimas.
- **Transporta la carga a la altura de la cadera y lo más cerca posible del cuerpo.** Si el transporte se realiza con un solo brazo, evita inclinaciones laterales de la columna.
- **Evita los trabajos que se realizan de forma continuada en una misma postura.** Se debe promover la alternancia de tareas y la realización de pausas, establecidas en función de cada persona y del esfuerzo exigido.

Por último, recuerda que en tu trabajo es necesario aplicar las medidas de organización más idóneas, tener la formación e información adecuadas a los riesgos derivados de la manipulación manual de cargas y disponer de los medios necesarios para realizar el trabajo de forma segura.

Medios auxiliares sobrecargados pueden ser un riesgo.



Medios auxiliares sobrecargados pueden ser un riesgo.

9 ENTREVISTAS

PERFILES RELACIONADOS CON LA CIENCIA
DEL ANIMAL DE LABORATORIO



PILAR BRINGAS DE LA LASTRA

Lugar de Trabajo:

Centro de Asistencia a la Investigación (CAI),
Animalario de la Universidad Complutense de
Madrid (UCM).

Breve descripción del cargo que ocupa:

Directora Técnica Veterinaria del CAI.

Años Experiencia:

16 años.

Sociedades en las que participa:

SECAL, ESLAV.

Participación dentro de SECAL:

He sido miembro de la Junta de Gobierno.

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

Durante el último año de realización de la tesis doctoral, fui a Barcelona para realizar el curso de "Capacitación para el uso del animal de laboratorio" que impartía la Universidad Autónoma de Barcelona. Esto, junto con la demanda del momento de personas con cierta formación específica en el campo del animal de experimentación hizo que cambiara el mundo de Farmacología y Toxicología por el de los animales de laboratorio.

Resumen de su actividad profesional

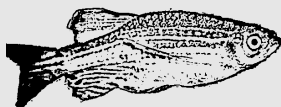
Mi actividad profesional la he desarrollado durante todos estos años, gestionando el centro de experimentación animal de la UCM.

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

Todo lo referente a bienestar animal y nuevos sistemas de gestión de centros, fundamentalmente en relación con las colonias de transgénicos.

¿Cuáles son sus objetivos para los próximos años?

Mi objetivo para los próximos años es conseguir que un centro publico universitario como en el que trabajo, y con las dificultades que ello implica, logre mantenerse dentro de los sistemas de calidad que deben exigirse y aplicarse a los animales.



¿Que consejos daría a los que ahora se inician?

Si su trabajo es directamente en el animalario, ya sean gestores técnicos o cuidadores, que se llenen los bolsillos de entusiasmo y de paciencia, además de autoestima, ya que desarrollan una labor importantísima para todas aquellas investigaciones que implican el uso del animal de laboratorio, aunque a veces no sea suficientemente valorada.

Por otro lado, a los investigadores que centran sus objetivos en el conocimiento de cualquier aspecto de estos animales, que se mantengan en esta línea, pues queda mucho por aprender y muchas incógnitas por resolver.

Si hay gente que pertenece a los dos grupos, mi enhorabuena, han conseguido lo más difícil.

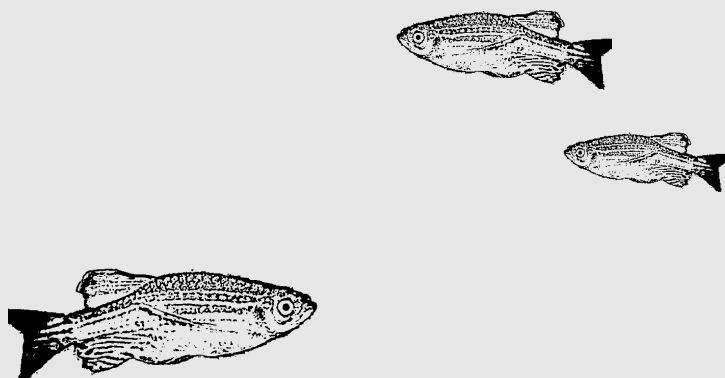
En cualquier caso mucho ánimo a todos.

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

La oferta de formación en España era hasta hace poco escasa. Sin embargo, la necesidad de adquirir las acreditaciones de las distintas categorías publicadas en el RD 1201/2005 ha disparado la oferta de cursos encaminados a adquirir dichas categorías. Quizás, a mi parecer, faltaría formación complementaria a estos cursos, en el que se pudieran adquirir conocimientos más específicos y/o especializados.

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

José María Orellana y Luís Muñoz de la Pascua.



ENTREVISTAS

PERFILES RELACIONADOS CON LA CIENCIA
DEL ANIMAL DE LABORATORIO



JORGE MARIO SZTEIN

Lugar de Trabajo:

Laboratorio de Reproducción Asistida y Criopreservación (ARTiC) de la sección de Medicina Comparada (CMB) del Instituto Nacional de Enfermedades Alérgicas e Infecciosas (NIAID) de los Institutos Nacionales de la Salud de EEUU (NIH)

Breve descripción del cargo que ocupa:

Director Asociado al programa de Medicina Comparada, a cargo de la gestión de la reproducción asistida de las colonias de roedores y del banco de embriones, como servicio a los investigadores del Instituto.

Años Experiencia:

Mi primera transferencia embrionaria fue en 1976, de eso ya hace más de tres décadas. Recuerdo que estaba en segundo de Veterinaria y era voluntario en un centro de investigación (IMBICE) donde conocí y aprendí manipulación de embriones de los profesores Dra. Susana Merani y Dr. Cesar Horgan.

Sociedades en las que participa:

ISTT, AALAS, SECAL

Participación dentro de SECAL:

Soy miembros de SECAL desde hace unos cinco años; espero participar activamente en el próximo Congreso que se celebrará en noviembre en Salamanca.

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

Siempre me ha gustado la investigación aplicada.

En la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina, donde estude e inicié mi camino al mundo de los ratones, había muy pocos “ratólogos especializados”. Una era la Dra. Aixa de Vecchi, a quien tuve el gusto de conocer y fue una pionera en el tema, y luego la Dra. Cecilia Carbone quien realmente promovió la especialidad como ciencia y fue quien juzgó mi tesis doctoral.

Debo mencionar que quien me ayudó muchísimo en mi carrera fue el Dr. Joe Held, por ese tiempo Director del Centro Panamericano de Zoonosis, donde hice mis primeras armas como profesional especializado en el tema.

Luego estuve a cargo del Animalario de La Academia Nacional de Medicina y, al irme a los Estados Unidos de América, pasé el testigo a mi amigo y compañero el Dr. Fernando Benavides.

Resumen de su actividad profesional

Comencé siendo estudiante atendiendo el criadero de animales de laboratorio en la Facultad, luego en un pequeño centro de investigaciones privado donde trabaja con ratón y meriones (“gerbil”). Más tarde estuve en el Centro Panamericano de Zoonosis, donde en 1985 realicé el primer censo de usuarios de animales de laboratorio. Unos años más tarde, trabajé en el bioterio de la Academia Nacional de Medicina hasta que viajé a los Estados Unidos.

En los Estados Unidos comencé como postdoctoral para hacer transgénicos. Eso fue hace ya 20 años. Al año me hice cargo de la producción de transgénicos y de la criopreservación. Mi mentor en congelación fue el Dr. Bill Rall y, en transgénicos, como en los 90 nadie sabía mucho, nos ayudamos los unos a los otros. Fue duro, pero aprendí y logre producir la primera rata transgénica del NIH.

En el año 95 fui contratado por los Laboratorios Jackson (95-00) donde permanecí 5 años trabajando solamente en el área de congelación, Durante ese tiempo trabajamos mucho en la criopreservación y colaboré en la creación del EMMA en Roma.

En el 2001 volví al NIH, al Instituto del Ojo (NEI), el mismo donde había comenzado como post-doctoral, pero esta vez a cargo del laboratorio de Criopreservación y Transgénesis, cargo que mantuve hasta el año pasado en que cambie de instituto (NIAID) dentro del mismo NIH.

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

Criopreservación y reproducción asistida.

¿Cuáles son sus objetivos para los próximos años?

Ahora estamos trabajando en algo muy interesante con los hámster enanos de Siberia (*Phodopus sungorus*), con los que ya hemos podido actuar en la fertilización y congelación y ahora quisiéramos hacer transgénicos con ellos. También extender el mismo proyecto a cobayos.

¿Que consejos daría a los que ahora se inician?

Que la formación es la clave.

Recuerdo cuando hice mi primer curso de dirección de bioterios, en el que me asignaron limpiar un lavabo y aparentemente lo hice mal. Tuve que hacerlo de nuevo. Ese profesor decía que debíamos exponernos y aprender cómo se hacen las cosas para luego poder pedir a otro que las haga.

También les diría que sean conscientes de que lo que nos gusta no nos cuesta trabajo. Así con un poco de esfuerzo, una pizca de perseverancia y no dejar de sonreír... Ya que todo está ahí, solo hay que saber buscarlo.

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

Todo ha cambiado en forma gigantesca en los últimos 15 años. Pienso que ahora ofrece un conocimiento más amplio de la profesión y se va tomando conciencia de la importancia y necesidad de la educación y formación especializada.

Nuestro curso de Criopreservación auspiciado por SECAL ya lleva 8 años...

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

Jordi Canto Martorell y Julia Fernández Ponzano.

