

ANIMALES

de laboratorio

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

Transferencia no quirúrgica de embriones en el ratón

Nuevo estándar para roedores de laboratorio libres de patógenos específicos (SPF) y libres de patógenos específicos y oportunistas (SOPF)

¿Y tú qué opinas?
Movimientos respiratorios anómalos durante la inducción anestésica

Entrevista a
Juan De Dios
Hourcade Bueno

- Un modelo genético de ratones permite estudiar patologías neuromusculares
- Ratones con sistema inmune humano aceleran la investigación de la vacuna del VIH



Centrados en su investigación.

Como proveedor global de modelos de alta calidad de investigación, dietas y servicios de asistencia, Harlan Laboratories ha demostrado su rendimiento con equipos de investigación en todo el mundo. Nuestra misión es la de ayudarle a mejorar sus investigaciones.

Para más información, visite nuestra Web www.harlan.com o contacte con nosotros en rms.es@harlan.com

Modelos

Dietas

Servicios



www.harlan.com

©2010 Harlan Laboratories, Inc.
Harlan, Harlan Laboratories, Helping you do research better, and the Harlan logo are trademarks of Harlan Laboratories, Inc.

ANIMALES

de laboratorio

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

<http://www.secal.es>

GRUPO EDITOR

DIRECTORA

Teresa Rodrigo Calduch
direccion.revista@secal.es

SUBDIRECTOR

Hernán Serna Duque
direccion.revista@secal.es

RESPONSABLES SECCIONES

Jose Luis Martín Barrasa
Jesús Martínez Palacio
M^a Granada Picazo Martínez
Daniel Baizán Vicent
Hernán Serna Duque

EDITORES DE ESTILO E IMAGEN

Olga Fernández Rodríguez
Juan de Dios Hourcade Bueno

PUBLICIDAD

Isabel Blanco
publicidad.revista@secal.es

DISEÑA - IMPRIME

Biblos Impresores, S.L.
biblos@biblos.info

DEPÓSITO LEGAL

M-1362-1999

Desde la prehistoria, entre los grandes temores de los hombres se encuentran el dolor y la enfermedad. En la lucha contra estos miedos, los humanos se han servido del conocimiento que les proporcionaban los animales. Desde los hombres prehistóricos que se fijaban en la anatomía y los órganos internos de los animales que cazaban cuando los descuartizaban (prueba de ello son las pinturas rupestres de los aborígenes australianos que se encuentran en Oenpelli y a las que incluso han denominado "estilo rayos X"), hasta los grandes avances en el conocimiento científico durante la época clásica, el renacimiento y sobretodo en la ilustración, es obvio que los animales han sido claves para el estudio del funcionamiento del cuerpo humano.

Este año, el Premio Nobel de Medicina y Fisiología 2012 se ha otorgado al Británico John B. Gurdon y al japonés Shinya Yamanaka por sus investigaciones pioneras en clonación y células madre, respectivamente. Gurdon, de la Universidad de Cambridge (Reino Unido), sentó las bases de la clonación en sus primeras investigaciones en 1962 con ranas, siguiendo con la famosa oveja Dolly y posteriormente con otros mamíferos. Yamanaka, de la Universidad de Kioto, por las denominadas células madre pluripotentes inducidas que obtuvo en el 2006 a partir de células de ratones.

En el comunicado de la Asamblea Nobel se encuentran las siguientes afirmaciones:

"Sus descubrimientos han revolucionado nuestra comprensión de cómo se desarrollan las células y los organismos" y "han creado nuevas oportunidades para investigar enfermedades y desarrollar métodos para diagnósticos y terapias".

"Estos descubrimientos han proporcionado nuevas herramientas a científicos de todo el mundo y han conducido a avances notables en muchas áreas de la medicina".

Y todos estos grandes logros han sido posibles por la utilización de animales de experimentación. No cabe duda de que mientras no se encuentren metodologías alternativas, la experimentación animal ha sido y continúa siendo crucial para el avance del conocimiento científico en esa lucha del ser humano contra sus grandes miedos.

SERVICES



CUSTOMIZED BREEDING SERVICES

REPRODUCTIVE SCIENCES

STRAIN
DECONTAMINATION



SPERM OR EMBRYO
COLLECTING



CRYOPRESERVATION
OF SPERM[†] AND
EMBRYOS



IN VITRO
FERTILIZATION



CRYOSTORAGE OF MODELS
(CRYO-BANK)



REVITALIZATION
OF FROZEN EMBRYOS



[†] Revitalization of cryopreserved sperm involving use of JAX[®] mice strains is performed by The Jackson Laboratory. JAX[®] is a registered trademark of The Jackson Laboratory. All rights reserved.

 **JANVIER**
THE REFERENCE

Tel: +33 (0) 2 43 02 90 28
Fax: +33 (0) 2 43 02 00 15
E-mail : myproject@janvier-europe.fr
www.janvier-europe.com



JUNTA DE GOBIERNO DE LA SECAL

PRESIDENCIA:

Belén Pintado Sanjuanbenito (2009-2013)*
presidencia@secal.es

VICEPRESIDENCIA:

Javier Guillén Izco (2011-2015)*

SECRETARÍA:

Isabel Clara Rollán Delgado (2009-2013)*
secretaria@secal.es

VICESECRETARÍA:

Elena Ciordia Balduz (2011-2015)*

TESORERÍA:

Nieves Salvador Cabos (2009-2013)*
tesoreria@secal.es

VICETESORERÍA:

Isabel Blanco Gutiérrez (2011-2015)*

VOCALÍAS:

M^o Rosa Arnau Diaz-Llanos (2009-2013)*

Rosa Bonavia Abril (2011-2015)*

José Luis Martín Barrasa (2009-2013)*

Jesús Martín Zúñiga (2009-2013)*

Leticia Martínez Caro (2011-2015)*

Luis Parra García (2011-2015)*

Anna Pujol Altarriba (2011-2015)*

Ignacio Segovia Hijarrubia (2009-2013)*

*PERÍODO DE PERMANENCIA EN LA JUNTA DE GOBIERNO.

SOC. BENEFACTORES:

ANADE

ANTONIO MATACHANA S.A.

BIOESCAPE GmbH

BIOSIS S.L.

CENTRE D'ELEVAGE JANVIER

CHARLES RIVER LABORATORIES

DINOX S.L.

DYNAMIMED

ETYCA S.L.

FAGESA BIOLAB

GLAXO SMITHKLINE

GRANJA S. BERNARDO

HARLAN LABORATORIES MODELS

NIRCO S.L.

NORAY BIOINFORMATICS S.L.U.

PROLABOR

RENTOKIL

RETTENMAIER IBERICA S.L.

SOURALIT

SDS DIETEX FRANCE

STERILTECH S.L.

STERIS

VESTILAB S.A.

VIVOTECNIA

7 Otras Noticias

- Más subvenciones para la investigación en las 3Rs
- Medidas para mejorar el acceso a la información científica producida en Europa
- Un modelo genético de ratones permite estudiar patologías neuromusculares
- Ratones con sistema inmune humano aceleran la investigación de la vacuna del VIH

13 Técnicas

- Transferencia no quirúrgica de embriones en el ratón

23 Seguridad en 5 Minutos

- El exposoma y la exposómica

31 Entrevista

- Juan De Dios Hourcade Bueno

9 Artículos

- Nuevo estándar para roedores de laboratorio libres de patógenos específicos (SPF) y libres de patógenos específicos y oportunistas (SOPF): ¿Qué ganamos y qué podemos perder?

19 Y tú qué Opinas

- "Vísteme despacio, que tengo prisa": Movimientos respiratorios anómalos durante la inducción anestésica

27 Libros y Páginas Web

- Dime cómo soy



Mobiliario y Equipamiento
en Acero Inoxidable

Equipamiento de Sala Blanca

Vestuario

Ultra limpieza

Desinfectantes, Detergentes
y Lubrificantes Estériles

Sistemas de aplicación
de Desinfectantes

Monitoreo
Microbiológico en Continuo

Alfombras y Pavimentos
retenedores de partículas



Otras Noticias

Más subvenciones para la investigación en las 3Rs

El NC3Rs (*National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research*) ha anunciado 21 nuevas subvenciones por un total de 5.1 millones de libras para la investigación sobre reemplazo, reducción y refinamiento en el uso de animales en la ciencia - conocido como 'las 3 Rs'. Esta es la mayor asignación única de fondos del Reino Unido destinada a la financiación de proyectos que encuentren nuevas formas de avanzar en las 3Rs; una cantidad record, tras las contribuciones adicionales de los fundadores del NC3Rs, la Biotecnología y Ciencias Biológicas de Investigación (BBSRC) y el Consejo de Investigación Médica (MRC).

Muchos de los proyectos involucran a equipos multidisciplinares y en los que gran parte de la nueva investigación se centra en el desarrollo y la utilización de técnicas de vanguardia.

El NC3Rs continúa demostrando que la investigación sobre las 3Rs no beneficia sólo a los animales, sino que también puede dar lugar a nuevos descubrimientos que, en última instancia, pueden beneficiar a los pacientes.

El NC3Rs trabaja en tres áreas importantes:

- Financiación y apoyo a nuevas investigaciones sobre las 3Rs.
- Elaboración y difusión de información sobre las 3Rs.
- Creación de un foro destinado a la industria, la academia, las agencias reguladoras, y la comunidad de protección de los animales con el objetivo de trabajar juntos hacia el progreso y la implementación de las 3Rs.

Este año, el NC3Rs ha presentado una convocatoria conjunta con el BBSRC para propuestas de investigación que desarrollen nuevas formas de medir y evaluar el bienestar de los animales; el NC3Rs teniendo en cuenta las propuestas que impliquen animales de laboratorio, y el BBSRC las relacionadas con el ganado y los animales de compañía.

El profesor Douglas Kell, Director General del BBSRC, dijo: *"Tenemos la responsabilidad de garantizar los más altos estándares de bienestar para los animales de granja, las mascotas y los utilizados en la investigación científica y médica. Para ello es necesario un conocimiento profundo de lo que es el bienestar de los animales y cómo se puede medir en diferentes animales"*.

Aumentando el número de animales utilizados en la ciencia debido a una mayor inversión en investigación, la comunidad científica tiene que buscar formas innovadoras de reducir nuestra dependencia de los modelos animales y asegurarse de que cuando se utilizan, se hace con el máximo beneficio y los más altos estándares de bienestar. Recientemente, el NC3Rs ha anunciado el CRACK 2012 IT Challenge, una iniciativa abierta a la innovación que toma problemas identificados por la industria y los investigadores y se los pasa a la pequeña empresa y la academia para encontrar soluciones, con objeto de reemplazar, refinar y reducir el uso de animales en la ciencia.

El reemplazo es el objetivo final para el NC3Rs, pero mientras el uso de animales siga siendo necesario, se deben hacer todos los esfuerzos posibles para reducir al mínimo el número de animales y mejorar su bienestar. Condiciones óptimas de bienestar animal son fundamentales por razones científicas, éticas y jurídicas.

www.alnmag.com - <http://www.nc3rs.org.uk/news> - <http://www.bbsrc.ac.uk/news/research-technologies/2012>
<http://policyblog.amrc.org.uk/2012/07/24/crack-it-finding-solutions-to-reduce-animal-research/>

Medidas para mejorar el acceso a la información científica producida en Europa

A partir de 2014, las investigaciones financiadas directamente por la Unión Europea (UE) a través de su 8º Programa Marco tendrán que publicarse con acceso abierto. La Comisión Europea (CE) apoyará nuevos métodos de revisión por pares, disciplinas y de medición del impacto de un artículo.

La revisión por pares consistirá en que dos o más revisores lean y analicen los artículos con objeto de determinar tanto la validez de las ideas y los resultados como su impacto potencial en el mundo de la ciencia. Los evaluadores, se buscarán entre los investigadores con más prestigio en las diferentes disciplinas.

Para fomentar la innovación, la Comisión Europea (CE) ha decidido facilitar que los investigadores y las empresas aprovechen los resultados de los trabajos financiados con fondos públicos del 8º Programa Marco.

Neelie Kroes, vicepresidenta de la CE y responsable de la Agenda Digital para Europa, ha establecido una ambiciosa política de datos abiertos sobre la información que generan, recogen o pagan los organismos públicos de toda la Unión Europea, con el objetivo de aumentar la difusión y el aprovechamiento de los resultados de la investigación científica.

A lo largo de los años, los esfuerzos por difundir el Open Acces (OA) se han concretado principalmente en dos estrategias. Una, es la denominada "vía verde" que se centra en el archivado; los autores de artículos científicos publican en revistas convencionales pero, además, permiten que sus artículos estén libremente disponibles en la Red. Para ello, generalmente se utiliza un repositorio institucional, es decir, un archivo digital en el que un organismo hace pública la producción de sus profesores o investigadores.

La otra es la "vía dorada" y se centra en la edición; los autores publican en revistas OA, de modo que sus artículos son inmediatamente accesibles. Por la vía dorada, el editor podrá poner en línea los artículos inmediatamente y los costes de publicación podrán acogerse a reembolso por parte de la Comisión Europea.

La Comisión ha recomendado a los Estados miembros que adopten un planteamiento similar respecto a los resultados de la investigación financiada por sus propios programas nacionales.

"El acceso abierto a la información y a los artículos científicos agilizará importantes avances de nuestros investigadores y empresas e impulsará el conocimiento y la competitividad en Europa", ha declarado Maire Geoghegan-Quinn, Comisaria de Investigación e Innovación.

Según el comunicado oficial, la CE creará y apoyará infraestructuras electrónicas para acoger y compartir la información científica que sean interoperables a escala europea y mundial; ayudará a los investigadores a cumplir sus obligaciones de acceso abierto y fomentará una cultura de puesta en común.

<http://www.agenciasinc.es/Noticias/En-2014-toda-la-investigacion-financiada-con-dinero-de-la-UE-debera-ser-de-acceso-abierto>
www.erevistas.csic.es/especial_revistas/revistas53.htm



Un modelo genético de ratones permite estudiar patologías neuromusculares

Investigadores del Vall d'Hebrón Institut de Recerca (VHIR), el Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), el Hospital 12 de Octubre y la Universidad Europea de Madrid han desarrollado un nuevo modelo genético que permite el estudio de enfermedades neuromusculares.

Concretamente, el Grupo de Patología Mitocondrial y Neuromuscular del VHIR liderado por los doctores Ramón Martí y Antonio L. Andreu, ha desarrollado un modelo de ratón modificado genéticamente, que permite reproducir con gran exactitud los síntomas de las enfermedades causadas por defectos en el almacenamiento de glucógeno. Los resultados de este trabajo, publicado recientemente en la revista *Brain*, suponen un punto de inflexión en el estudio de las enfermedades neuromusculares. Se trata de un estudio pionero en el que se ha conseguido reproducir la enfermedad de McArdle de manera muy parecida a la de los humanos, a diferencia de los demás modelos existentes para enfermedades musculares.

La enfermedad de McArdle, patología de tipo genético y extremadamente rara, provoca una falta de disponibilidad de glucosa, provocada por la ausencia de la enzima glucógeno fosforilasa, que bloquea la actividad muscular y se manifiesta, principalmente, por intolerancia al ejercicio, calambres y rotura de fibras musculares o rabdomiólisis que provoca la presencia de orinas oscuras tras el ejercicio o mioglobinuria. En extremo, estas proteínas liberadas en la sangre pueden producir una insuficiencia renal aguda.

En la actualidad, no existen terapias para restaurar la actividad miosofosforilasa en los pacientes. Aunque se han identificado dos modelos animales espontáneos de la enfermedad de McArdle (en ganado vacuno y ovino) que han prestado una cantidad limitada de información sobre la fisiopatología de la enfermedad, ha habido pocas oportunidades para la investigación experimental en este campo.

Este grupo de investigación, ha desarrollado un modelo de ratón *knock-in*, mediante la sustitución del alelo de tipo salvaje de Pygm por un alelo modificado portador de la mutación común en el humano, p.R50X, que es la causa más frecuente de la enfermedad de McArdle, y que se encuentra en más del 50 por ciento de las personas afectadas. Esta mutación tiene la ventaja de que sólo afecta a un tejido en concreto y la función de éste puede ser evaluada con precisión.

La creación de este modelo posibilita el estudio en profundidad de la fisiopatología de esta enfermedad, así como una buena aproximación terapéutica a estudio de otras alteraciones neuromusculares.

Nogales-Gadea G., Pinós, T., Lucia A., et al. *Knock-in mice for the R50X mutation in the PYGM gene present with McArdle disease*. *Brain* 2012, 135: 2048-57.

<http://www.europapress.es/salud/noticia-desarrollan-modelo-genetico-ratones-permite-estudiar-patologias-neuromusculares-20120723170235.html>

Ratones con sistema inmune humano aceleran la investigación de la vacuna del VIH

Uno de los retos para el desarrollo de vacunas contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ha sido el de disponer de un modelo animal que refleje con precisión la respuesta inmune humana al virus y cómo evoluciona éste para evadir esa respuesta. Un modelo creado mediante el trasplante de los elementos del sistema inmune de los humanos en un ratón inmunodeficiente reducirá considerablemente el tiempo y el coste necesarios para probar vacunas contra el VIH.

Investigadores del Hospital General de Massachusetts (MGH), del Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT) y de la Universidad de Harvard, han desarrollado un nuevo modelo animal que podría simplificar los ensayos de vacunas en humanos.

Estudios recientes realizados por el equipo del Dr. Allen revelan que el control inmunológico del virus está significativamente limitado por su capacidad para evadir la respuesta inmune por mutación rápida.

El modelo BLT (bone marrow, liver, thymus), publicado en el último número de la revista *Science Translational Medicine*, ha sido creado mediante el trasplante de los elementos del sistema inmune de humanos en un ratón inmunodeficiente, el cual reducirá considerablemente el tiempo y el coste necesarios para probar vacunas candidatas.

Andrew Tager, coautor de la investigación y director del programa de ratón humanizado en el MGH, explica que los primeros estudios con ratones humanizados BLT han demostrado que este modelo reproduce muchos aspectos de la respuesta inmune de los humanos.

Un modelo rápido y rentable

Se infectaron ratones humanizados BLT con VIH-1. Seis semanas después, los investigadores encontraron que el virus había evolucionado rápidamente en las regiones conocidas por ser el blanco de las células T CD8 (efectoras de la inmunidad celular). La evolución de secuencia viral también reveló la rápida y sumamente reproducible evasión de estas respuestas, reflejando las adaptaciones para recibir presiones inmunes observadas durante la infección natural VIH 1.

La respuesta específica de células T en estos ratones, se parece mucho a los de los humanos en términos de especificidad, cinética e inmunodominancia. En palabras de uno de los investigadores: "Estos ratones parecen reproducir la especificidad de la respuesta celular humana frente al VIH y el virus intenta eludir estas respuestas tal como lo hace en los seres humanos".

La observación de este modelo indica que no sólo los sistemas inmunes de ratón humanizados responden al VIH, sino también que el virus muta para evitar estas respuestas de una manera similar a la que se observa en los seres humanos.

Dudek T.E., No D.C., Seung E., et al. *Rapid Evolution of HIV-1 to Functional CD8+ T Cell Responses in Humanized BLT Mice*. *Sci Transl Med*. 2012, 4(143): 143ra98.

<http://www.agenciasinc.es/Noticias/Ratones-con-sistema-inmune-humano-aceleran-la-investigacion-de-la-vacuna-del-VIH>



Stephen Hillen, DVM

Harlan Laboratories

Nuevo estándar para roedores de laboratorio libres de patógenos específicos (SPF) y libres de patógenos específicos y oportunistas (SOPF): ¿Qué ganamos y qué podemos perder?

*E*n los roedores de laboratorio siempre ha habido diferentes categorías sanitarias, dictaminadas por las necesidades específicas de uso de los investigadores. Criados de forma convencional, en barrera, en aisladores, libres de virus, gnotobióticos e incluso libres de gérmenes, todas estas distintas categorías son importantes para sus usuarios específicos, ya que sin ellos no podrían llevar a cabo su investigación. La cuestión es si la comunidad científica en general estaría mejor con menos categorías sanitarias diferentes y cuál sería el nivel de salud mínimo que satisfaría a todo el mundo.

Durante varias décadas, el estado de salud de los roedores de laboratorio ha mejorado cada vez más. Los criadores han eliminado los patógenos conocidos de los roedores y otros organismos infecciosos recientemente descubiertos como el *Helicobacter* y el Norovirus de ratón (MNV), consiguiendo el nivel SPF (libre de patógenos específicos). El siguiente paso es lograr eliminar los microorganismos llamados oportunistas, que

están presentes en el ambiente y propagan tanto los animales como los humanos. La mayoría de las veces son inofensivos para los roedores, pero pueden provocar problemas en determinados animales o circunstancias. A esta categoría sanitaria se la conoce como SOPF (libres de patógenos específicos y oportunistas).

La diferencia entre SPF y SOPF es bastante importante. Existe un acuerdo general sobre cuáles son los patógenos de los roedores -con la conocida excepción de los *Estreptococos Beta-Hemolíticos del grupo B*, que se consideran oportunistas en Estados Unidos y patógenos en Europa según la lista de FELASA- por lo que la definición de SPF está clara. Sin embargo, el acuerdo es menor en la definición de oportunista de los roedores, por lo que los criadores tienen que informar exactamente de qué oportunistas no están presentes en sus animales, ya que el término SOPF no es válido para un solo caso. Generalmente, los criadores disponen de animales libres de las siguientes bacterias por encima del



nivel SPF: *Klebsiella oxytoca* y *pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (y Estreptococos Beta-Hemolíticos en Estados Unidos).

Los beneficios de una mejora en el estado de salud (de SPF a SOPF) se entienden fácilmente en los modelos inmunodeficientes (más vulnerables a las infecciones debido a su comprometido sistema inmunológico), sobre todo si su sistema inmune se debilita aún más por métodos como la radiación. El uso, en última instancia, de estos animales inmunodeficientes (oncología o modelos de ratones humanizados) no cambia nada en cuanto al beneficio general.

Los beneficios de una categoría sanitaria mejorada en modelos inmunocompetentes son más controvertidos porque los costes de mantener a estos animales a este (alto) nivel durante un periodo prolongado son bastante importantes. No olvidemos que los oportunistas pueden propagarlos los humanos, incluidos los propios cuidadores. Por tanto, la fuente de posible contaminación por bacterias oportunistas en las instalaciones de los animales está presente diariamente.

Es importante que se evalúen los riesgos en el ámbito de su investigación y su institución. Los oportunistas pueden comprometer los resultados en los animales modificados genéticamente, en los animales para uso en toxicología o en los animales irradiados. Y traer oportunistas a una institución también aumenta las probabilidades de infección de las colonias de alto riesgo (como los inmunodeficientes).

Puesto que la supresión de los humanos como fuente de contaminación es inconcebible, se deben reducir los posibles contactos entre animales y humanos pasando de jaulas abiertas por la parte superior a jaulas con filtro, jaulas ventiladas de forma individual y aisladores, que eviten respirar el mismo aire. Pero el contacto todavía es necesario para la limpieza, la manipulación, el destete, el recuento, el sexado y la so-

cialización. Por eso el contacto debe tener lugar en un ambiente especialmente protegido con varias capas (aislador) o bajo una campana de flujo laminar con aire dirigido que proteja a los animales. Dado que no se puede eliminar a la persona, podrán ocurrir errores humanos, interrupciones (en la desinfección, la vestimenta y el mantenimiento del equipo), procedimientos inadecuados, falta de formación, etc. Son varias las disertaciones (Sam Boutin, Jim Fox y Hilton Klein) que describen el descubrimiento de microorganismos en roedores (*Helicobacter pullorum*) cuyo origen es humano.

Mantener el estado SOPF también requiere prestar más atención a los procesos de esterilización, desinfección e introducción y a los niveles de filtración. En las instalaciones de animales con jaulas abiertas, debe tenerse aún más cuidado para reducir la presencia de oportunistas en los humanos (duchas de aire y de agua), hacer que las personas vayan lo más tapadas posible para evitar la propagación y desinfectar las manos con los guantes puestos, los brazos cubiertos y el pecho para eliminar las bacterias cuya transferencia no se elimina con la ropa. ¿Cómo evitar el contacto involuntario al tocar con guantes piel desprotegida?, ¿cómo equilibrar la elección de mascarilla para la nariz y la boca (calidad frente a comodidad)? o ¿cómo reducir o eliminar el contacto entre el guante del criador y los animales?, siguen siendo cuestiones de difícil solución.

Los laboratorios de roedores criados en barreras ya han empezado a utilizar respiradores y fórceps para conseguir un estado SOPF. Pero los respiradores son caros y, aunque los ratones aceptan fácilmente los fórceps, su uso es más polémico con las ratas, que se vuelven agresivas si se manipulan así. El mordisco de una rata, aunque se lleven puestos los guantes, transferirá seguramente bacterias de la piel humana a la boca de la rata, que es exactamente lo que queremos evitar.



Artículos

Si desde un punto de vista práctico pueden entenderse sus beneficios en los ensayos toxicológicos que duran semanas o meses (reducción del número de variables), la relación entre el coste y el beneficio no es favorable en otros campos como la cría a largo plazo y la inmunología.

Cuanto menor es la estimulación del sistema inmunológico, menor es sin duda su reactividad en caso de problemas. Cabe recordar los brotes nefastos de infecciones de *Staphylococcus aureus* en grandes grupos de ratones inmunocompetentes que obligaron a abortar los estudios que se estaban realizando. La menor respuesta inmunológica también podría causar problemas a la hora de probar productos como las vacunas, ya que los animales SOPF producirían menos anticuerpos de lo necesario para protegerse y las pruebas biológicas de estos productos serían peligrosas.

Los principales distribuidores de animales mejoran continuamente el estado de salud de sus animales basándose en las tendencias del mercado o siguiendo las especificaciones de un cliente sin pensar en su justificación científica en general. Los proveedores de servicios trabajan con sistemas innovadores y prácticos para que mantener a los animales y su estado de salud resulte económico, pero estos sistemas no permiten evaluaciones generales del estado de salud a un coste aceptable, y la publicidad en torno a mantener el nivel de salud más alto marca la diferencia de percepción de calidad en el mercado.

En estos días de recortes presupuestarios, reducciones en las subvenciones y menor apoyo a los programas de investigación, las preguntas más importantes que un investigador debe hacerse cuando se encuentre ante la tesitura de si escoger animales SOPF en vez de SPF son: ¿Es útil para mi investigación? ¿Sus beneficios compensan sus inconvenientes? ¿Se ha hecho una buena evaluación de los riesgos? Las mismas preguntas debe plantearse una institución, porque seguir la última moda sin un buen motivo puede salir muy caro.



Fuente: Concurso de fotografía SECAL



Servicios para animalarios
Formación del personal
Diseño de instalaciones
Consultoría y asesoramiento





Transferencia no quirúrgica de embriones en el ratón

Edilia Inés de Almeida Cordón

Jesús Martínez Palacio

Servicio de Animalario – CIEMAT –

Introducción

La transferencia de embriones de ratón ha pasado de ser una técnica utilizada casi exclusivamente en centros dedicados a la transgénesis en cualquiera de sus variedades, a ser una técnica común en la mayoría de los laboratorios por sus implicaciones en los procesos de criopreservación o reproducción asistida, y su utilidad como alternativa más segura y eficaz a la cuarentena o cesárea aséptica para la sanitización de colonias de roedores (rederivación).

La técnica tradicional (transferencia quirúrgica) descrita en el libro *'Manipulating the mouse embryo. A laboratory manual'* de Hogan y colaboradores, incluye la transferencia a útero y a oviducto. Esta técnica es el *'gold standard'* actual en la transferencia de embriones, y ofrece unos rendimientos de un 80% de gestaciones y un 75% de embriones implantados¹. La eficacia, en nuestras manos, con embriones microinyectados sería de un 35% de nacimientos sobre el total de embriones transferidos (Figura 1).



Figura 1. Microcapilar de vidrio conteniendo embriones de ratón

Esta técnica 'clásica', vinculada a la generación de OMGs se caracteriza por:

- Un número limitado de embriones, y de gran valor por ser manipulados.
- Interesa maximizar la eficacia, no se deben perder embriones.
- Está restringida a unos pocos laboratorios.

La transferencia transcervical es la técnica normalmente usada en transferencias embrionarias en ganadería e incluso en humanos. Mediante un equipo sencillo, se depositan los embriones en el cuerno uterino accediendo al mismo vía vaginal a través del cérvix.

En el ratón hay algunas referencias antiguas acerca del uso de estas técnicas^{2,3}, pero su complejidad, eficacia limitada, la necesidad de fabricar complejos sistemas y los problemas y riesgos que implicaba (roturas de cuernos uterinos), así como la vinculación inicial de la técnica a laboratorios de transgénesis con una alta capacidad técnica y quirúrgica, hizo que no fuera considerada como una alternativa hasta la aparición del dispositivo NSET (*Non-Surgical Embryo Transfer*) de Paratechs.

El concepto de transferencia embrionaria ha sufrido un cambio enorme al llegar a nuestras instalaciones (Animalario del CIEMAT) dos nuevas técnicas:

- Criopreservación y reproducción asistida.



- Rederivación sanitaria de embriones.

Estas nuevas técnicas suponen un cambio en los paradigmas de la transferencia transcervical, pues ahora:

- Todos los Servicios de animalario van a estar interesados.
- No requiere una gran complejidad de las instalaciones.
- Cambiamos el paradigma de la transferencia:
 - o Buscamos recuperar líneas, no la máxima eficacia.
 - o Muchas veces basta con obtener unas pocas crías.
 - o Las técnicas son sencillas y compatibles con el trabajo normal de laboratorio.

Si comparamos las dos técnicas, la transferencia quirúrgica (realizada usualmente por expertos bien entrenados) es más productiva; sin embargo, esta nueva técnica es mucho más simple, rápida, reduce notablemente los costes, facilita el acceso a la transferencia embrionaria a personal y laboratorios inexpertos en cirugía o con un equipamiento mínimo, posibilita la realización de transferencias en condiciones de aislamiento (aislador flexible) o de riesgo biológico (no pipeteo con la boca), y supone un elevado impacto en la mejora del bienestar animal.

Entre las ventajas que ofrece esta técnica encontramos:

- Pasamos de un procedimiento quirúrgico con apertura de cavidades corporales (severidad grave) a una manipulación simple que no requiere ni sedación (apenas severidad leve), con la importante mejora del bienestar animal que representa.
- La nula necesidad de supervisión y atención postquirúrgica, supone un importante ahorro de tiempo frente a la técnica quirúrgica clásica. En la siguiente tabla, se exponen las diferencias de costes entre la técnica quirúrgica y la del mecanismo NSET.

	Surgical Procedure	NSET Procedure
Minutes Per Procedure*	60	2
Labour & Overhead/Minute**	60 x £1.04	2 x £1.04
Labour & Overhead Cost /Procedure	= £62.40	= £2.08
Consumable Cost of NSET**	N/A	£15.00
Total Cost of Procedure	£62.40	£17.08
NSET Price Reduction		73%

* Includes pre and postoperative care. **Overhead cost per facility will vary.
*** Cost analysis does not include reduction of surgical consumables.

Tabla 1. Tabla tomada de <http://www.nset-device.co.uk/>. Aunque los tiempos y datos pueden ser discutibles, la diferencia resulta evidente.

- No es necesario fabricar pipetas de vidrio de manejo y transferencia, ni pipetear con la boca los embriones (más complejo y con ciertas consideraciones de bioseguridad: vidrio, pipeteo de embriones tratados con vectores virales).

PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA DE TRANSFERENCIA TRANSCERVICAL EMBRIONARIA Y 'NO QUIRÚRGICA' PRESENTADA POR PARATECHS MEDIANTE EL DISPOSITIVO NSET

MATERIAL NECESARIO

1. Hembras receptoras

Necesitamos una hembra receptora pseudogestante de día 2.5 p.c., consciente. El uso de sedantes dificulta la técnica y reduce su eficacia. Conviene usar hembras de buen tamaño (*outbred*, de más de 26 gramos de peso) y de unas 7 semanas de edad. Utilizamos la presencia del tapón mucoso vaginal como indicador de 'pseudogestación' (Figura 2). Las hembras cubiertas sin estar en celo (pasa en un cierto porcentaje de casos), serán muy difíciles (por no decir imposibles) de transferir por esta técnica.



Técnicas



Figura 2. Tapón vaginal mucoso (Fotografía de A. Page -CIEMAT)

2. Embriones

Los embriones se pueden transferir en distintos estadios, siendo los más favorables mórula (2.5) o blastocisto (3.5) (Figura 3). Nuestra experiencia indica que cuanto menor sea la manipulación *in vitro* del embrión, mejores resultados se obtienen. Si dejamos los embriones en 'cultivo' hasta desarrollar mórulas/ blastocistos, la eficacia del método se reduce notablemente frente al uso de embriones 'frescos' obtenidos directamente de la hembra donadora. Para la obtención de un mayor número de embriones pueden utilizarse protocolos de super-ovulación.



Figura 3. Imagen de embriones de ratón en distintas fases de desarrollo (Fotografía de A. Ramírez -CIEMAT)

El número de embriones transferidos por hembra puede ir de 12 a 24. Se recomienda transferir unos 20 embriones. Este número tan elevado hace que aumente el tamaño de la camada obtenida, aunque estadísticamente la eficacia del método se reduzca frente a lo obtenido con números menores.

3. Dispositivo NSET (Figura 4)

El dispositivo para la transferencia presentado por Paratechs, viene a ser una punta de micropipeta modificada de teflón y polietileno. Tiene una longitud de 2.60 cm y un diámetro exterior de 0.076 cm. Es muy similar a los catéteres intravenosos o abocaths (Figura 5) que se utilizan en clínica, pero adaptado en sus dimensiones, material y boquilla (que se adapta a una micropipeta P2 estándar).



Figura 4. Dispositivo NSET con sus espéculos.



Figura 5. Catéteres intravenosos.



Utilizando una micropipeta P2 y este dispositivo (Figura 6), podremos cargar directamente los embriones utilizando una lupa. Esta es una de las ventajas de este método, pues para personal poco entrenado, el uso de pipetas manuales es mucho más sencillo e intuitivo que el pipeteado con capilares y aspiración por boca.



Figura 6. Material necesario para una transferencia.

Una vez cargados los embriones, se forma una pequeña burbuja de aire en la punta del dispositivo para evitar su salida por capilaridad. Esto es tan sencillo como calibrar la P2 a 1.8 para aspirar los embriones y después mover la ruedecita hasta 2.

PROCEDIMIENTO:

La mecánica de la transferencia puede verse en un vídeo en la Web de Paratechs⁴ y resumidamente consiste en:

1. Se inmoviliza manualmente a la hembra receptora y se le introducen dos espéculos vaginales para abrir la vagina y facilitar la visión del cérvix (Figura 7). Al mismo tiempo, la longitud combinada de los espéculos y el dispositivo de transferencia asegura que no se dañe el cuerno uterino durante el procedimiento. Ayudándose de una fuente de luz fría (lámpara de cuernos o cuello de cisne; Figura 8), una vez insertado el espéculo mayor, puede visualizarse el cérvix.



Figura 7. Inserción del espéculo en una hembra receptora.



Figura 8. Uso de la luz fría para visualizar el cérvix.

2. A continuación, se introduce el dispositivo a través del cérvix, hasta el fondo, y se expulsan hacia adentro los embriones contenidos en la pipeta (Figura 9). Lógicamente, la pipeta debe mantenerse pulsada hasta la extracción del dispositivo para evitar 'retirar' los embriones transferidos.



Figura 9. Inserción del dispositivo.



Técnicas

3. Una vez retirado el dispositivo y el espéculo, el animal se libera sin posterior manipulación.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos con esta técnica son variables, como variables son las condiciones en que se puede realizar; aun así, utilizando los parámetros óptimos, aproximadamente el 27% de los embriones transferidos llegan a nacer⁵.

En una encuesta entre miembros de la ISTT (Sociedad Internacional de Tecnología Transgénica), se reportaban entorno al 70% de gestaciones con un promedio de 3.5 nacidos por gestación. Estos valores se incrementan notablemente (hasta aproximarse a los de la técnica quirúrgica clásica) con personal entrenado.

En la imagen siguiente puede verse el resultado de la 'transferencia' de 1.5 μ L de fluoresceína en una hembra pseudogestante. La imagen se captó con un equipo *Kodak Image station 2000* transcurridos 15 minutos tras la 'transferencia'. Demuestra la correcta liberación de los embriones en el cuerno uterino de la hembra receptora.

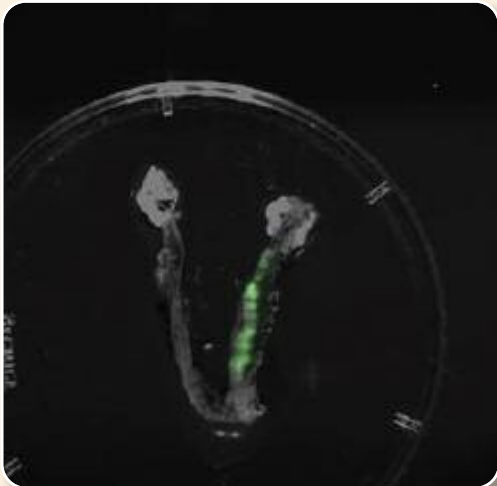


Figura 10. 'Transferencia' de una prueba de fluoresceína para identificar el sitio de expulsión de los embriones. La imagen verde (fluorescente) corresponde al material transferido.

CONCLUSIONES

La técnica no quirúrgica puede ser una alternativa válida para la transferencia embrionaria - aun cuando sus rendimientos pudieran ser inferiores a la técnica clásica - suponiendo un importante avance en cuanto a bienestar animal y simplicidad y accesibilidad de la misma.

Esta técnica puede cubrir la creciente necesidad de implementar la transferencia de embriones en los Servicios de Animalario, con técnicas sencillas y sin incrementar los costes ni los equipamientos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Johnson L.W., Moffatt R.J., Bartol F.F., and Pinkert C.A. *Optimization of embryo transfer protocols for mice*. Theriogenology 1996, 46(7): 1267-76.
2. Davis T. *Nonsurgical Transfer of Mouse Embryos*. Bios 1981, 52(3): 127-33.
3. Marsk L. and Larsson L.S. *A simple method for non-surgical blastocyst transfer in mice*. J. Reprod. Fert. 1974, 37:393-8.
4. <http://www.paratechs.com/nset.htm>
5. Green M.A., Bass S., and Spear B.T. *A device for the simple and rapid transcervical transfer of mouse embryos eliminates the need for surgery and potential post-operative complications*. Bio-Techniques 2009, 47:919-24.

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



software para gestión de animalarios

nueva versión 3.00

anibio hace que todas las piezas encajen

Gestión del animalario

- Animales, jaulas, cruces, incidencias...



Comunicación con investigadores

- Consulta de animales y genotipado
- Petición de servicios
- Mensajería interna



Estadísticas e informes

- Entrada/salida de animales
- Informes países UE



Gestión de pedidos

- Nuevos y existentes



Comité Ético

- Gestión de proyectos
- Gestión de procedimientos
- Documentación



- Software y soporte en varios idiomas**
Informes acordes a la legislación europea
Explotación de datos
Fiabilidad
Flexibilidad
Eficiencia

ventajas

encuentra tu anibio

Basic

Gestión profesional de un animalario



Advanced

Funcionalidades Extra (Servicios, Gestión financiera, Acceso web, etc)

PLAT

Para complejas plataformas institucionales con "n" animalarios



A medida

Software modular que permite añadir módulos a medida de tus necesidades



anibio@noraybio.com
www.noraybio.com

Anunciate en Animales de Laboratorio, la revista de la SECAL

más de 400 socios relacionados con el sector de los animalarios.



publicidad.revista@secal.es



¿Y tú qué Opinas?

**ESTA SECCIÓN TIENE COMO OBJETIVO DESCRIBIR CASOS CLÍNICOS O PRÁCTICOS
"INTERACTUANDO" CON EL LECTOR.**

TODOS LOS SOCIOS ESTÁN INVITADOS A PARTICIPAR APORTANDO SUS CASOS

CONTACTO: JOSÉ LUIS MARTÍN BARRASA; jlbarrasa@gmail.com

“Vísteme despacio, que tengo prisa”: Movimientos res- piratorios anómalos durante la inducción anestésica

**JoséLuisMartínBarrasa
AranzazuAnabitartePrieto**

Hospital Univ. de Gran Canaria, Dr. Negrín

Durante una de las sesiones prácticas, realizadas en un modelo porcino, de un curso de manejo quirúrgico del paciente politraumatizado, el animal falleció durante la inducción anestésica.

Como en otras ocasiones, en las que no había muerto ningún animal ni ocurrido ningún tipo de accidente, para esta sesión práctica, los animales llegaron al estabulario cuatro días antes para su aclimatación y chequeo del estado sanitario, permaneciendo en ayunas 12 horas antes del primer tiempo quirúrgico a excepción del agua, que se retiró 6 h antes.

Los animales, cerdas híbridas del cruce Large White x Duroc x Landrace, tenían un peso de 27 - 30 kg y procedían de la granja proveedora habitual con registro sanitario y ganadero, y por supuesto, sometida a los programas de saneamiento y control ganadero oficiales.

El día de la cirugía, 1 hora antes del primer tiempo quirúrgico, se procedió a pesar al animal y realizar una premedicación mediante la inyección intramuscular de la combinación Ketamina (10 mg/ kg) + xilacina (0.5 mg/kg) + atropina (0.04 mg/kg). La consecución

de la preanestesia se comprobó mediante la abolición del reflejo de estación (imposibilidad del animal para permanecer de pie). Tras 15 - 20 minutos el animal fue transportado desde el box hasta el quirófano, donde se lavó y rasuró convenientemente. Igualmente, se le colocó una vía periférica a nivel de una vena auricular, con un catéter de 22 G y 2.5 cm de longitud que se fijó con esparadrapo. A continuación, se colocaron los sensores adhesivos para monitorización electrocardiográfica y se puso una pinza-sensor de pulsioximetría en la cola del animal. Finalmente, se trasladó a la mesa de quirófano, donde fue colocada en posición de decúbito prono sobre una manta térmica para controlar la temperatura.

Para la fase de inducción, preoxigenamos al animal (100% O₂) mediante una mascarilla de Hall durante unos 5 minutos. Seguidamente, y a través de la misma mascarilla, procedimos a la inducción propiamente dicha con sevoflurano al 8%. Tras comprobar una saturación del 99% y un ritmo sinusal a 60 lat/m, se aplicó una solución anestésica local sobre la glotis mediante pulverización de lidocaína al 10%, se comprobó au-



sencia de reflejo laríngeo y de reflejo parpebral, y por último se procedió a la intubación con un tubo endotraqueal de 6.5 mm. Se verificó la permeabilidad de la vía aérea y se fijó correctamente a la pared traqueal mediante inflado del balón del traqueotubo.

Para el mantenimiento ventilatorio, anestésico y analgésico se pretendía usar el siguiente protocolo:

- Sevoflurano al 4% combinado con infusión continua (gracias a un sistema de suero conectado a bomba infusora) de Propofol (2 mg/k/h) + Fentanilo (2 µg/K/h). La mezcla (fentanilo + Propofol) se realizó sobre suero salino 0.9%.
- La ventilación mecánica se llevaría a cabo con un ventilador automático Servo 900 C, SIEMENS®, manteniendo una frecuencia respiratoria de 15/min, (I/E) de 1:2, una fracción de inspiración de oxígeno (FiO₂) de 30 - 60%, con una presión inspiratoria pico máxima (PIP máx) de 13 cm H₂O, un volumen corriente de 10-15 ml/kg y una presión positiva intermitente (PEEP) de 4 cm de H₂O.

De este modo, el animal se ventiló automáticamente y la combinación anestésica parenteral se perfundió a través del catéter colocado en la vena auricular. Aproximadamente al minuto de ventilación, se observó desaturación de O₂ (80%), taquicardia sinusal (140 lat/m) y coloración cianótica de mucosas. Inmediatamente, se suspendió la perfusión anestésica y la administración de sevoflurano, observándose movimientos respiratorios muy débiles, con poca expansión torácica. Se decidió revisar la colocación y permeabilidad del traqueotubo. Para ello se intentó movilizar el tubo, se auscultó la pared torácica para detectar ruido respiratorio, y la percepción fue muy débil. De manera urgente, se comprobó la conexión de los gases al ventilador, la presión de entrada de los mismos al equipo, la frecuencia respiratoria, la PIP máx y la T^a rectal del animal. Tras verificar que todo estaba correcto, se decidió desconectar al animal del ventilador, retirar el traqueotubo y volver a colocarlo.

Durante los pocos minutos que duraron estas maniobras, se apreció una leve mejoría de las constantes

monitorizadas y los movimientos respiratorios se normalizaron. A los pocos minutos de volver a intubar y conectar al ventilador, se repitió la situación anterior. Los movimientos respiratorios fueron muy débiles, la saturación de O₂ bajó al 65%, comenzaron a aparecer extrasístoles ventriculares izquierdas y la cianosis fue mucho más evidente. Se aumentó la frecuencia respiratoria y la PIP máx hasta 25 cm. H₂O de manera puntual e intermitente, pero sin reversión del cuadro. Finalmente, tras entrada en fibrilación, se realizaron maniobras de resucitación cardiopulmonar y administración de adrenalina intracardiaca sin éxito y con resultado de fallecimiento del animal.

Sospechando, que la causa del accidente podría deberse a algún tipo de problema localizado en pulmón o vías respiratorias, se procedió a realizar la necropsia del animal. No se observaron perforaciones en tráquea o laringe. La colocación del traqueotubo era correcta y tampoco se evidenció presencia de cuerpos extraños o mucosidad extrema que justificaran una obstrucción de la vía aérea, tampoco edema en bronquios principales ni tráquea, ni áreas de atelectasia, ni de consolidación pulmonar (carnificación) que nos pudieran hacer sospechar de neumonía enzoótica porcina o algún otro tipo de cuadro neumónico.

¿Y tú qué opinas?

¿A qué crees que se debieron los problemas después de la inducción anestésica?

Observando los parámetros ventilatorios de la Figura 1, ¿encuentras una explicación definitiva al problema?

SOLUCIÓN:

A la vista de la sucesión de acontecimientos, parece evidente que el problema debía encontrarse relacionado con la permeabilidad de la vía aérea o bien, con el funcionamiento del respirador automático. Durante la preoxigenación e inducción con la máscara de Hall el animal



¿Y tú qué Opinas?

respondió sin ningún problema con frecuencia cardiaca, y saturación de O_2 adecuada y esperable. Sólo cuando se intubó y conectó al ventilador los movimientos respiratorios se hacían menos evidentes y aparecían los signos típicos de insuficiencia respiratoria; además, durante el tiempo transcurrido entre desintubar y volver a colocar el tubo y conectar a ventilador, el animal recuperó ligeramente la función respiratoria. Esto hizo sospechar, en un primer momento, de una posible perforación de tráquea o bronquio principal, que explicaría la aparente pobre expansión del tórax durante la inspiración.

Otra posibilidad que se barajó fue la presencia de secreciones bronquiales elevadas que obstruyeran el tubo endotraqueal. Esta última opción no parecía muy probable, ya que se usó atropina durante la premedicación para, entre otras cosas, evitar el aumento de secreciones en la vía respiratoria. Además se vio, cuando se retiró el tubo la primera vez, que tales secreciones no existían.

Lesiones en el parénquima pulmonar no parecía ser la causa ya que durante la exploración inicial no se observaron signos de enfermedad pulmonar, y en las fases de preoxigenación e inducción con mascarilla los movimientos respiratorios eran fisiológicos y tenía una excelente saturación de O_2 .

Como ya se explicó, la necropsia confirmó que no existían lesiones en el pulmón o vías respiratorias, por lo que la causa debía estar "fuera del animal". Aparentemente el ventilador funcionaba correctamente, tenía bien conectada la entrada de gases, funcionaba con correcta presión de entrada de los mismos, y los principales parámetros, con los que se quería ventilar habían sido revisados. Pero, si se observa sin prisas y de manera sistemática los parámetros programados del ventilador (ver Figura 1), se observa que la PEEP marca 12 cm H_2O aproximadamente. Eso explica que el animal sufriera una insuficiencia respiratoria grave, ya que la presión inspiratoria (PIP máx.) que el ventilador proporcionaba (13 – 14 cm H_2O) era prácticamente igual a la presión que quedaba en la vía respiratoria al final de la espiración (12 cm H_2O). Por eso no se apreciaba una diferencia clara entre los movimientos de espiración e inspiración.

A efectos prácticos, lo que ocurrió fue que el animal era incapaz de expulsar el CO_2 durante la espiración ya que se mantenía una inspiración casi continua. Es lo que se denomina, maniobra de reclutamiento. Esta maniobra es muy útil cuando se pretende la apertura de unidades alveolares, que frecuentemente están colapsadas en algunas situaciones como la enfermedad pulmonar o tras la manipulación quirúrgica del pulmón. Cuando dicho aumento de la PEEP se realiza de forma transitoria, repetidas veces pero a intervalos muy cortos (3-7 segundos aproximadamente.), se consigue aumentar la capacidad residual funcional y por consiguiente aumenta el volumen pulmonar, al distender los alveolos, por lo que se produce una mejoría de la presión arterial de O_2 .

El ir con prisas, no ser metódico y no seguir un protocolo ordenado en la revisión de los parámetros de ventilación, monitorización de constantes, etc. hace que en algunas ocasiones ocurran estos hechos desagradables. Nadie verificó que la PEEP que se utilizó en la cirugía del día anterior no se había vuelto a colocar a la presión necesaria para el mantenimiento anestésico (3-5 cm H_2O). La última vez que se modificó fue la tarde anterior, cuando tras finalizar una cirugía de tórax, y para realizar la retirada del drenaje pleural, se forzó momentáneamente una inspiración sostenida, con una maniobra de reclutamiento.



Figura 1. Panel frontal del ventilador automático Servo 900 C, SIEMENS®. En él se observa la configuración de los parámetros establecidos por el anestesista durante la inducción anestésica y la aparición de las irregularidades.



Granja San Bernardo

M.D.L.

MINIMAL DISEASE LEVEL

LABORATORY RABBIT · Type: New zeeland white

MINIMAL DISEASE LEVEL= Total absence of all important rabbit disease germs.

Specific sanitary guarantees: ask our most recent guarantee tables.

CONEJO PARA LABORATORIO · Type: Neozelandés blanco

MINIMAL DISEASE LEVEL= Ausencia total de gérmenes patógenos importantes del conejo.

Garantías sanitarias específicas: solicite nuestro control de estado sanitario más reciente.



Granja San Bernardo S.L. - Tulebras · Navarra · España

Tlfno/Fax: 948 85 01 25

atencionalcliente@granjasanbernardo.com

www.granjasanbernardo.com

Empresa certificada en :





Seguridad en 5 minutos

El exposoma y la exposómica

Jesús Martínez Palacio

Servicio de Animalario – CIEMAT

En esta ocasión vamos a hablar de un nuevo concepto muy en boga entre los prevencionistas, el exposoma. Y lo haremos resumiendo y adaptando un artículo del Organismo Americano de Seguridad y Salud en el Trabajo (NIOSH).

- y la persistencia del mismo en nuestro organismo

Los agentes ambientales pueden ser físicos (como las radiaciones), químicos (como los óxidos de nitrógeno, NO_x), o biológicos (como las bacterias, virus...)

El exposoma se puede definir como la medida de todas las exposiciones de un individuo durante su vida y cómo dichas exposiciones afectan a su salud.

La exposición de un individuo comienza antes del nacimiento e incluye fuentes ambientales y ocupacionales. Incluiría la comprensión de cómo la exposición a nuestro medio ambiente, dieta, estilo de vida, etc. interactúa con nuestras propias características únicas, tales como la genética, la fisiología, o la epigenética articulando nuestra salud.

La exposómica es el estudio del exposoma y se basa en la aplicación de métodos de evaluación interna y externa de la exposición.

La exposición interna se basa en campos de estudio tales como la genómica, metabolómica, lipidómica, transcriptómica y proteómica. Elementos comunes de estos campos son:

1. el uso de biomarcadores para determinar la exposición, el efecto de la exposición, la progresión de la enfermedad y los factores de susceptibilidad
2. el uso de tecnologías que producen grandes cantidades de datos, y
3. el uso de técnicas de análisis de datos para encontrar asociaciones estadísticas entre exposiciones, el efecto de las exposiciones y otros factores, como la genética, con la enfermedad

The exposome: Exposure to Disease



El Exposoma: de la exposición a la enfermedad. Grafico tomado del NIOSH.

¿Qué es el exposoma?

Es un término acuñado a raíz del éxito del proyecto genoma en el mapeo del genoma humano. Definimos la 'exposición' como la valoración del contacto entre el individuo y cualquier agresor o agente ambiental. La valoración implica definir tres parámetros:

- el tiempo o duración de la misma
- la intensidad o concentración/nivel del agente



La evaluación de la exposición externa se basa en la medición de los factores ambientales. Los métodos habituales incluyen el uso de instrumentos de lectura directa, análisis de laboratorio y los basados en la encuesta higiénica (sistema típico de análisis de exposiciones laborales).

Un factor clave en la descripción del exposoma es la capacidad de medir con precisión la exposición y los efectos de la exposición. Muchas de las tecnologías "ómicas" tienen el potencial de mejorar nuestra comprensión de la etiología de la enfermedad y su progresión.

¿Por qué debemos estudiar el exposoma?

Una de las promesas del proyecto del genoma humano era que podría revolucionar nuestra comprensión de las causas subyacentes de la enfermedad y ayudar en el desarrollo de la prevención y cura de las enfermedades.

Desafortunadamente, la base genética representa tan solo alrededor del 10% de las enfermedades, y el resto parece obedecer a causas ambientales. Por tanto, para entender las causas y, finalmente, la prevención de la enfermedad, es necesario estudiar las causas ambientales.

¿Cuáles son los retos de la progresión de la exposómica?

Algunos de los desafíos que pueden limitar el progreso en este campo de estudio son evidentes. El exposoma de una persona es muy variable y dinámico a lo largo de su vida. El impacto de la exposición también puede variar con la etapa de desarrollo del individuo. Por ejemplo, la exposición a la talidomida durante determinados períodos de desarrollo en el útero provoca malformación de las extremidades, la exposición al plomo en los niños y la primera infancia puede llevar a deficiencias cognitivas. Exposiciones durante los primeros años también pueden predisponer a un individuo a ciertas enfermedades crónicas durante su vida.

La higiene laboral tiene una oportunidad única para generar información sobre la exposición ocupacional a este campo emergente. El impacto de la exposición

ambiental u ocupacional puede ser diferente para cada individuo debido a diferencias en los factores genéticos y personales. Algunas personas desarrollan una enfermedad, mientras que otra persona con la misma o mayor exposición no. El exposoma puede ayudar a determinar las causas de esta diferencia.

La experiencia en el estudio de la genética en enfermedades sirve como un modelo para estudiar la relación entre la exposición y la enfermedad. En el pasado, se demostraron las hipótesis de la función de genes específicos en la aparición de enfermedades. En la actualidad, las nuevas tecnologías permiten el análisis más rápido y barato, en todo el genoma, por estudios de asociación (Genetic Wide Association Studies, GWAS) para generar hipótesis acerca de la relación entre los genes y las enfermedades. Estos estudios identifican las vías genéticas asociadas con la enfermedad y, cuando una asociación se ha identificado, podemos establecer y probar hipótesis específicas sobre el papel de los genes en esa enfermedad.

Una aproximación al exposoma es utilizar datos biológicos internos y asociarlos a distintas situaciones. Los datos se analizan para identificar asociaciones entre los resultados de salud y biomarcadores de exposición, biomarcadores de respuesta, o patrones de biomarcadores de exposición (*Exposure Wide Association Studies, EWAS*).

Un aspecto importante del exposoma será la adhesión a estrictos principios éticos. Esto será fundamental para asegurar que los derechos de los individuos no se vean comprometidos al determinar la exposición y la relación con su salud.

¿Cuáles son las necesidades actuales de investigación?

Se han identificado tres áreas prioritarias para el exposoma ocupacional:

1. Inversión en la exploración de nuevas tecnologías y herramientas para medir exposiciones internas y externas.



Seguridad en 5 minutos

2. Estudios de epidemiología molecular para determinar las asociaciones entre la exposición y la enfermedad.
3. Desarrollo y validación de técnicas de biomonitorización para el seguimiento de exposiciones y vigilancia de la respuesta orgánica a las mismas.

Precisamente en estos días REMA (nuestra Sociedad hermana especializada en métodos alternativos) presentaba los resultados del proyecto europeo DEMOPHES relativo a la biomonitorización humana y su armonización, lo que demuestra el interés y actualidad de estos temas.

El enfoque de la higiene ocupacional en el exposoma intenta mejorar nuestra comprensión de las exposiciones ocupacionales y las consiguientes enfermedades relacionadas con el trabajo.

El exposoma ofrece la oportunidad de entender más las enfermedades profesionales y mejorar la manera de prevenirlas.



5

Se debe utilizar el mínimo número de animales que garantice resultados experimentales estadísticamente fiables.

Hazte miembro de SECAL
Descarga el formulario de inscripción en:

www.secal.es

Head office Castrop-Raukel
Hermannstraße 2-8
44579 Castrop-Raukel, Germany
phone +49 (0) 23 05 9 73 04-0
fax +49 (0) 23 05 9 73 04-44

Facility in Emmendingen
Fabrikstraße 2
79312 Emmendingen, Germany
phone +49 (0) 76 41 92 65-0
fax +49 (0) 76 41 47 97-2

Facility in Schönwalde
Hauptstraße 61b
16348 Wandlitz, Germany
phone +49 (0) 3 30 56 8 13-11
fax +49 (0) 3 30 56 8 13-12

BIOSCAPE
EBECO + EHRET FUSION



Full service lab animal technology

Representante en España:



Mari Carmen Viso

E-Mail maria-carmen.viso@bioscape.de

Teléfono + 34 6 55 76 38 28

Fax + 34 9 66 14 96 45

www.bioscape.de
info@bioscape.de

-  Cages, racks for conventional animal husbandry
-  Ventilated systems + IVC cages
-  Individual cages
-  Cage systems
-  Transport + accessories
-  Washing, cleaning + decontamination



Libros y Páginas Web

Dime cómo soy

Daniel Baizán Vicent

Los animales genéticamente modificados son uno de los pilares básicos de la investigación actual. El fenotipado permite conocer mejor qué consecuencias funcionales tiene una mutación inducida concreta.

La página que hemos seleccionado para este número está dentro de la página principal del CIBERER (<http://www.ciberer.es/index.php>), centro de investigación biomédica en red de enfermedades raras. Las enfermedades raras afectan a unos 3 millones de españoles y encontrar diagnósticos y terapias para los afectados, con celeridad, es una de las metas que persiguen los distintos grupos que componen el CIBERER.



La página hace referencia a una plataforma específica dirigida al fenotipado de animales de laboratorio: la plataforma SEFALer. SEFALer (<http://www.ciberer.es/sefaler>) son las siglas de “servicio de fenotipado de animales de laboratorio en red”. Para acceder a ella debemos entrar en la página principal del CIBERER y pinchar en la pestaña de plataformas, seleccionando SEFALer. Recomendamos visitar las demás plataformas ya que puede que les sean útiles dentro de sus campos de investigación.

Como se puede leer en la presentación: “SEFALer es un servicio coordinado por CIBERER a través de varios de sus grupos de investigación, sin precedentes a nivel nacional, y especializado en el fenotipado de modelos de animales con aplicación específica para enfermedades raras. Es una plataforma tecnológica en red en la que se están integrando grupos y servicios de

investigación (unidades SEFALer), que realizan actividades de fenotipado de animales de laboratorio, especialmente ratones modificados genéticamente. La plataforma SEFALer está permanentemente abierta a la incorporación de nuevos grupos de investigación.”

La idea de crear este servicio nació del proyecto EUMORPHIA (*European Union Mouse Research for Public Health and Industrial Applications*, <http://www.eumorphia.org>), puesto en marcha por la UE en el año 2002, y cuyo objetivo principal era el desarrollo de protocolos estandarizados (iniciativa EMPRESS, <http://empress.har.mrc.ac.uk>) para la caracterización fenotípica de ratones modificados genéticamente, y la identificación de modelos de animales para el estudio de enfermedades humanas de base genética (EUMODIC, <http://www.eumodic.org>). Finalizado ese proyecto, en 2006 se continuó con la puesta en marcha del *International Mouse Phenotyping Consortium* (IMPC, <http://www.mousephenotype.org>) destinado al fenotipado de líneas de ratón transgénico, generadas mediante la mutación de todos y cada uno de los genes del genoma de ratón, mediante la aplicación a gran escala de dichos protocolos estandarizados. Hay varios centros europeos (*Mouse Clinics*) que llevan a cabo esta actividad y, en el futuro, se prevé que haya también uno en Barcelona.

SEFALer se crea en el año 2009 y está dedicado al fenotipado de animales de laboratorio, con especial atención al de los modelos de enfermedades raras.

Una vez conocemos los antecedentes y qué es lo que pretende y ofrece este servicio, analizaremos los distintos apartados de los que se compone la plataforma. La interfaz es sencilla y clara: una columna a la izquierda con distintas pestañas que nos lleva a cada uno de los apartados. Dentro de cada apartado la información se muestra mediante un texto explicativo con hipervínculos que complementan la información.



El primer apartado es el Fenotipado. Si alguien desconoce qué es, aquí te ofrecen una definición precisa. Además, en un segundo epígrafe, nos cuentan cómo es el fenotipado completo de una línea de ratón, las fases en que se divide, y por qué se hace. Con este esquema, el investigador puede hacerse una idea general de los pasos que debe dar para obtener un fenotipado completo. Aunque no debemos olvidar, como bien dice este servicio, que hay que tener una serie de equipamiento y un cierto nivel de especialización para completarlo con éxito.

El segundo apartado describe la estructura del SEFALer que, en la actualidad, se compone de 4 unidades o grupos F:

– Unidad SEFALer F1

Servicio de Evaluación Neurofuncional no Invasiva (ENNI) del Instituto de Investigaciones Biomédicas “Alberto Sols”, especializado en el fenotipado de la función auditiva. Unidad CIBERER U761 dirigida por la Dra. Isabel Varela Nieto, en asociación con (i) el Hospital Universitario-Facultad de Veterinaria-UCM, especializado en el fenotipado somatosensorial y motor; y (ii) con el Servicio de Alergia del Hospital Gregorio Marañón, especializado en el fenotipado de la función respiratoria (<http://www.iib.uam.es/servicios/nine/funciones.es.html>)

– Unidad SEFALer F2

Departamento de Anatomía Patológica, Patología Molecular, Hospital Universitario de Canarias. Unidad CIBERER U740 dirigida por el Dr. Eduardo Salido, especializado en fenotipado de la función renal.

– Unidad SEFALer F3

Laboratorio de Análisis Neuroconductual de Modelos Murinos Genéticamente Modificados, Centro de Regulación Genómica, Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona. Especializados en el fenotipado neuroconductual (centrado en el fenotipo motor, cognitivo y emocional). Unidad CIBERER U716 dirigida por la Dra. Cristina Fillat.



– Unidad SEFALer F4

Grupo de Receptores Plaquetarios del Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC, especializado en el fenotipado hematológico y del sistema de la coagulación. Unidad CIBERER 734, dirigida por la Dra. Consuelo González Manchón.

Una de las metas que busca el SEFALer es poder crear una red de grupos que puedan ofrecer un servicio integral en todas las áreas de fenotipado de modelos de animales de enfermedades raras. Por ese motivo, desde el SEFALer se anima a unirse a la plataforma, para poder crear un servicio acorde con las necesidades que plantean. Este apunte nos lleva al siguiente apartado ¿Cómo colaborar?

Uno de los pilares de la investigación son las colaboraciones. Los investigadores suelen crearlas para complementar las bases de sus propios trabajos. Sería difícil llegar a resultados globales sin ese manantial que son las colaboraciones, puesto que ningún grupo investigador suele poseer los recursos o las destrezas en todos los campos científicos. Con esta premisa, podríamos argumentar que cada grupo que compone el servicio de fenotipado se especializa en una parte del proceso global y quedan muchos apartados vacantes para completar integralmente el fenotipado.

Las formas de colaboración se dividen en tres modalidades:

- Servicio de asesoramiento técnico: para consultas, asesoría científica, etc...



Libros y Páginas Web

- Servicio de estudios de fenotipado específico: ofrecer la tecnología y el apoyo tecnológico que se realiza en el grupo para incorporarlo al proyecto.
- Colaboración para actividades de formación.



Si después de leer el artículo, consideramos la posibilidad de adherirnos al servicio, la mejor manera de hacerlo es escribir a sefaler@ciberer.es y ellos despejarán todas las dudas que puedan surgir.

Los siguientes apartados que se encuentran en la plataforma son los de Preguntas Frecuentes y Enlaces de interés. Aunque sólo te responde a seis preguntas, puede que te haga pensar en otras muchas. Se puede saber qué es un fenotipado o porqué se hace, pero cómo hacerlo, los factores que pueden afectar o si existen métodos de fenotipado no invasivos son preguntas que deben quedar bien resueltas.

Los enlaces de interés se dividen en dos grupos: lo que hacen referencia al fenotipado; y los que tratan sobre legislación, cuidado y bienestar animal. Invito a los lectores a echar un vistazo a este apartado si quieren conocer más sobre servicios, métodos, animales o grupos que trabajan en el fenotipado.

Finalmente la plataforma concluye con el apartado de Noticias y el de Cursos, Congresos y Jornadas. Dado que SEFALer es una plataforma que está empezando

se puede entender que haya sido poco pródiga en información y por eso haya pocas noticias que hablen de ella. Aunque, conociendo a los profesionales que forman parte de las unidades, y de los futuros integrantes, no tardarán en expandir las noticias sobre las actividades del SEFALer.

Ahora sabemos dónde acudir si necesitamos saber más cosas sobre el modelo de ratón que estamos utilizando. Puede que no sea específico para enfermedades raras pero si se pregunta a los integrantes del SEFALer seguro que podrán responder a muchas de sus cuestiones. Y si además, después de leer el artículo y visitar la plataforma, están interesados en formar parte, se habrá dado un paso más para la resolución de las incógnitas que presentan las enfermedades raras.



6

Los animales deben estar estabulados en jaulas y recintos que reúnan condiciones ambientales apropiadas para cada especie, en los que, además, puedan desarrollar comportamientos propios de su especie.



INSTRUMENTACIÓN E INSTALACIONES CIENTÍFICAS

Proteja su Investigación de la
Contaminación con la Tecnología
Clarus™
Peróxido de Hidrógeno Vaporizado

C/. Laguna del Marquesado 14, Nave 1
28021 MADRID
Teléfono: 91 710 95 47
Fax: 91 796 65 52
E-mail: steriltech@steriltech.net
www.steriltech.net



- Totalmente escalable
- Libre de residuos
- Baja Temperatura
- Excelente compatibilidad de materiales



CLARUS™ Z
Especialmente
diseñado para salas
▪ Salas hasta 500 m³



CLARUS™ C
▪ SAS Biológicos
▪ Salas hasta 350 m³
▪ Racks Ventilados
▪ Aisladores
▪ Lava-racks



CLARUS™ L
▪ Racks Ventilados
▪ Aisladores
▪ Incubadores de CO₂
▪ Lava-racks



BMT Iberia, s.l.
C/. Laguna del Marquesado 14, Nave 1
28021 MADRID
Teléfono: 91 7230347
Fax: 91 5054494
E-mail: bmtiberia@steriltech.net
www.bmtiberia.es

**Esterilizadores a Vapor
STERIVAP HP IL, VAKULAB,
UNISTERI**





Entrevista

JuanDeDiosHourcadeBueno

Perfiles relacionados con la ciencia del animal de laboratorio

Doctor en Biología Celular por la Universidad Complutense de Madrid, realizó su tesis doctoral en el Departamento de Reproducción Animal del INIA, dirigido por los doctores Belén Pintado y Alfonso Gutiérrez Adán. Hoy es Investigador Postdoctoral en el Departamento de Desarrollo y Diferenciación del Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa"-CSIC. En SECAL colabora con los "desarrolladores" de la página web, gestionando los contenidos y sirviendo de enlace entre los usuarios y la web.

Por comenzar en línea ¿Desde cuándo es miembro de SECAL?

Yo soy uno de esos miembros jóvenes de SECAL; contacté con la Sociedad a través de mi directora de tesis en el año 2006, desde entonces y entre otros gracias a la Sociedad, me he formado en el campo del animal de experimentación.

¿Desde que llevas la web, cuáles han sido tus aportaciones y/o cambios?

La verdad es que mis antecesores en el cargo dejaron una web muy diferente a la que nació con SECAL, y por tanto, con mucho trabajo hecho. El principal cambio radicó en la estructura en la que se mostraban los contenidos. Debía ser algo más dinámico, estéticamente más atractivo. Podemos decir que lo hemos conseguido, pero aún debemos seguir trabajando para mejorar. Por mi parte, tengo en mente nuevas modificaciones que irán encaminadas, en esta ocasión, al socio. Es necesario un cambio en el acceso del socio a los contenidos más empleados en nuestra profesión desde protocolos, manuales, fuentes de consulta, otras webs, hasta aspectos más propios de SECAL, como formación, la versión *on-line* de la revista, o la gestión de los propios usuarios (cuotas, datos personales, etc.) Esa es la línea de trabajo que ahora llevamos.

¿Cuál es tu opinión acerca del uso/utilidad de la página web por parte de los socios, te parece la apropiada?

Esta es la cuestión clave en el desarrollo de una web y debo ser un tanto crítico; el manejo de la página debería ser más cotidiano, esa es la respuesta. En este sentido van encaminados todos nuestros es-



fuerzos; hacer de la web un espacio de reunión e intercambio de información o recursos. Creo que día a día los socios de SECAL nos vamos concienciando de que el entorno web reunirá todo aquello que necesitamos para el desarrollo de nuestro trabajo. En ese sentido SECAL no puede, ni debe, perder terreno en un campo en continuo cambio como es la red y los entornos web.

¿Crees que traería ventajas a nuestros socios, el incrementar el número de prestaciones interactivas a la web?

En efecto y de eso se trata. Los contenidos audiovisuales, por ejemplo, son una fuente de inestimable valía a la hora de la formación. La incorporación de estos elementos ayudaría a la comprensión de las técnicas que empleamos. Pero no tendríamos que quedarnos ahí, la incorporación de foros donde los usuarios expongan sus cuestiones facilitaría la resolución de problemas y el contacto entre expertos. La navegación por internet ha mejorado sustancialmente; ahora tenemos conexiones de alta velocidad e incluso en nuestro teléfonos tenemos la posibilidad de consultar contenidos web. Este panorama obliga de alguna manera a crear contenidos interactivos. Posiblemente uno de los retos para mí sea la implementación de contenidos 2.0 en la web de SECAL.

Y ya terminando en red ¿Cómo ves el futuro de la página web?

Le auguro un futuro prometedor, francamente. Los cambios son complicados de afrontar y en tecnología, parece ser que mucho más por lo que supone para el aprendizaje. Sin embargo, para ser competitivos, atractivos y útiles debemos acometerlos. Hemos puesto los pilares para construirlo, ahora sólo toca trabajar.

Cuando la trazabilidad es una necesidad **SOURALIT** es su garantía

SOURALIT

Madera no resinosa

Mínima presencia de polvo

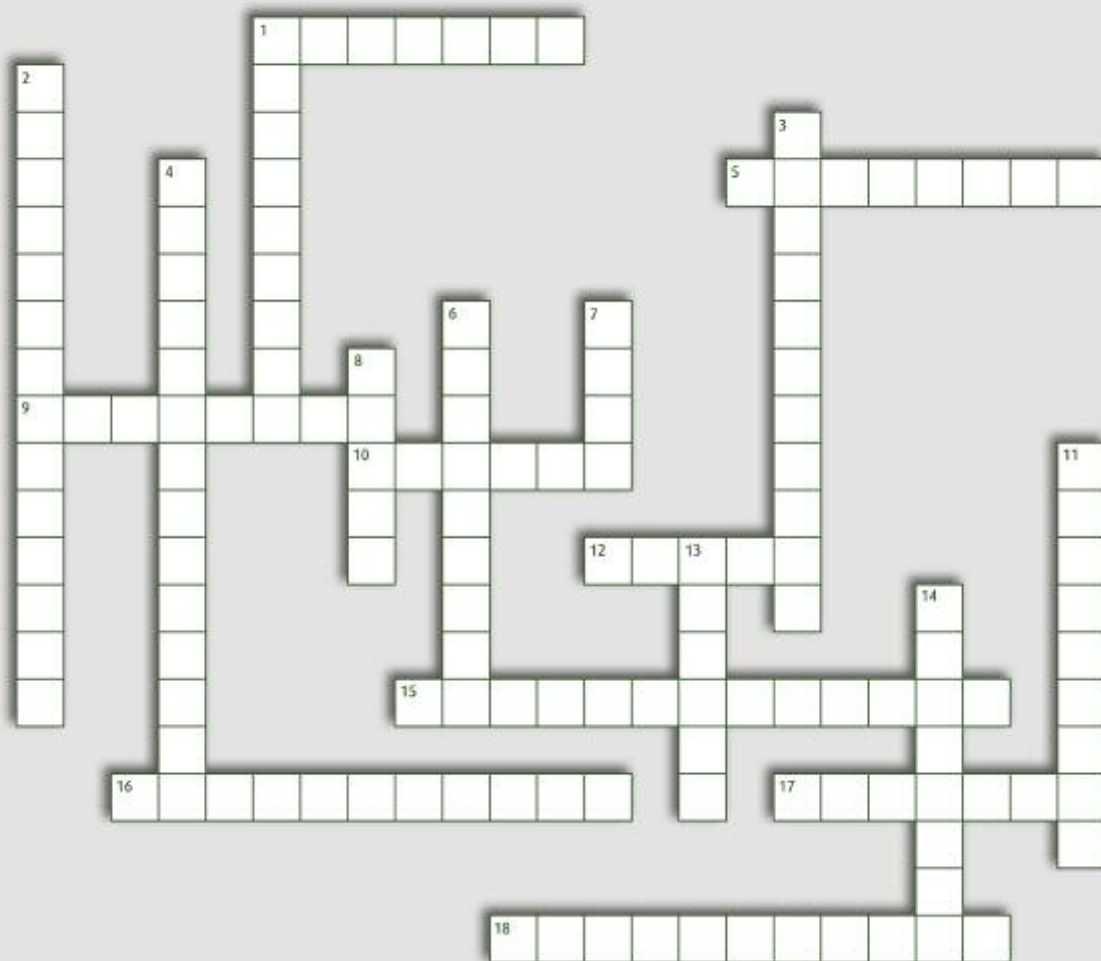
Gran capacidad de absorción

Presentaciones irradiadas envasadas al vacío

Análisis microbiológicos y físico-químicos de los lotes entregados



Crusecal



HORIZONTAL

1. Vaso o conducto que se encarga de llevar la sangre oxigenada desde el corazón hacia las demás partes del cuerpo
2. Las sustancias que no lo son pueden provocar lesión tisular
3. Es una medida de la capacidad de una determinada sustancia para disolverse en otra
4. Mezcla homogénea de dos o más sustancias
5. Utilizado para suprimir temporalmente el movimiento durante las administraciones
6. Sustancia capaz de desencadenar la formación de anticuerpos
7. Introducción o circulación adecuada, lenta y continua de una sustancia
8. Vena muy utilizada para la obtención de muestras sanguíneas en roedores
9. Muy utilizada en la vía oral
10. Método que se emplea para la administración local dentro de la cavidad de la articulación
11. La cantidad de una sustancia que se administra
12. Introducción de una sustancia en un organismo
13. La capacidad o la propiedad de una sustancia de causar efectos adversos sobre la salud
14. Volumen total de sangre circulante de un animal
15. pH ideal para las admistraciones
16. Punción venosa
17. Relativo a la letra G en las agujas
18. Sustancia que, administrada junto a un antígeno, aumenta de forma inespecífica la respuesta inmunitaria al mismo

VERTICAL

1. Sustancia que, administrada junto a un antígeno, aumenta de forma inespecífica la respuesta inmunitaria al mismo

Respuestas en www.secal.es



The Weight is Over.

No longer do you need to spend your time conditioning research models. There is now an immediate solution - Preconditioning Services from Charles River. Whether preparation for your study requires feeding special diets, aging of animals, phenotypic evaluations, or surgical manipulations, Charles River can provide you with animals preconditioned to your parameters and ready for use when they enter your facility.

For more information, please contact us at services@eu.crl.com

Referencias disponibles bajo demanda.

Rendimiento probado de líneas celulares.

Tal como demuestran publicaciones de las más reconocidas instituciones investigadoras de todo el mundo, los modelos oncológicos de Harlan Laboratories ofrecen especificaciones de alta calidad, dietas y servicios de asistencia que pueden necesitar en su investigación contra el cáncer.

Para más información, visite nuestra Web www.harlan.com/oncology.

Modelos

Dietas

Servicios



www.harlan.com

©2010 Harlan Laboratories, Inc.
Harlan, Harlan Laboratories, Helping you do research better, and the Harlan logo are trademarks of Harlan Laboratories, Inc.