

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

ANIMALES DE LABORATORIO

Invierno 2016. Número 68

I CONGRESO IBÉRICO DE CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO (XIII CONGRESO SECAL – III CONGRESSO SPCAL)

Recomendaciones para controles microbiológicos
ambientales y de agua en un animalario.

Medición de partículas en suspensión
en alojamientos de roedores: un caso práctico.

La resonancia magnética nuclear
en el seguimiento de tumores melanocíticos
tratados con radioterapia y células madre mesenquimales.

Entrevista Póstuma:
César Eguiluz Fernández



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio



Training courses 2016

Training Courses at BioXpert (= days)	Date (= weeknr.)
Introductory Course micro-surgery (2)	26 & 27 May (#21)
Advanced Course micro-surgery (2)	10 & 11 November (#45)
Chronic Bloodsampling Techniques (1)	T.B.D
Injection and Administration Techniques (1)	T.B.D
Telemetry in Rodents (2)	3 & 4 March (#9)
Introduction to Cryopreservation (1)	7 April (#15)
Advanced Course on Cryo and Embryotransfer (2)	7 & 8 July (#27)
Reproductive Surgery Courses (1)	27 October (#43)
Mouse Sperm Freezing (1)	8 December (#49)
Necropsy and Sampling (1)	29 September (#39)

Detailed information available at envigo.com/courses or contact secr@envigo.com

Envigo

PO Box 553, 5800 AN Venray, the Netherlands
 T +31 (0) 478 578 300 F +31 (0) 478 571 117

Envigo RMS B.V., is a Private Limited Liability Company, registered at the Chamber of Commerce in Venlo as Envigo RMS B.V.,
 No. 12036911 with its seat in Horst aan de Maas
 IBAN NL91ABNA0558496695 BIC ABNANL2A

envigo.com



Grupo Editor



REVISTA DE LA SOCIEDAD

ESPAÑOLA PARA LAS
CIENCIAS DEL ANIMAL
DE LABORATORIO
www.secal.es

DIRECTORA

Teresa Rodrigo Calduch
direccion.revista@secal.es

SUBDIRECTOR

Hernán Serna Duque
direccion.revista@secal.es

EDITORES DE ESTILO E IMAGEN

Olga Fernández Rodríguez
Lara Sedó Cabezon

PUBLICIDAD

Amaia Enbeita
publicidad.revista@secal.es

FOTO DE PORTADA

Centro de Cirugía de Mínima Invasión
Jesús Usón

Foto: SecalSpca12015

DISEÑO Y MAQUETACIÓN

CONEXION E.P.
clientes@agenciaconexion.com.co

IMPRIME

LCS REPROGRAF

DEPÓSITO LEGAL

M-1362-1999

Responsables Secciones



**NOTICIAS SECAL
ACTUALIDAD**
Cristina Gerbolés Freixas
kgerboles@gmail.com



TÉCNICAS
María Granada Picazo
mgpicazo@sescam.jccm.es



**ÉTICA Y LEGISLACIÓN
SEGURIDAD EN 5 MINUTOS**
Jesús Martínez Palacio
jesus.martinez@ciemat.es



¿Y TÚ QUÉ OPINAS?
José Luis Martín Barrasa
jimbarrasa@gmail.com



LIBROS Y PÁGINAS WEB
Sergi Vila Bellmunt
sergivilab@gmail.com



FACTOR HUMANO
Javier Fidalgo Fernández
fidalgo@ocelata.com



AL CUIDADO
Paloma García Potrero
pgarcia@srv.cnio.es



PANORAMA
Luis Muñoz de la Pascua
imp@usal.es



CONTROL SANITARIO
Sara Capdevila i Larripa
scapdevila@prbb.org

Junta de Gobierno

PRESIDENCIA

Antonio Martínez Escandell (2013-2017)

VICEPRESIDENCIA

Teresa Rodrigo Calduch (2015-2019)

SECRETARÍA

Ángel Naranjo Pino (2013-2017)

VICESECRETARÍA

Clara Muñoz Mediavilla (2015-2019)

TESORERÍA

Carlota Largo Aramburu (2013-2017)

VICETESORERÍA

David Muñoz Valverde (2015-2019)

VOCALÍAS

Helena Paradell Trius (2015-2019)
Hernán Serna Duque (2015-2019)
José Luis Martín Barrasa (2015-2019)
Juan Rodríguez Cuesta (2013-2017)
María Reyes Panadero (2013-2017)
Noraybio (2013-2017)
Sergi Vila Bellmunt (2015-2019)

SOCIOS BENEFACTORES:

CHARLES RIVER LABORATORIES ESPAÑA, S.A.
PANLAB S.L.U.
HARLAN LABORATORIES MODELS, S.L.
GRANJAS SAN BERNARDO
CENTRE D'ELEVAGE R.JANVIER
BIOSIS
STERIS IBERIA, S.A.
SOURALIT
DINOX SL
ANADE
GLAXOSMITHKLINE INV. Y DESARROLLO, S.L.
VESTILAB C.R.C., S.L.U.
NORAY BIOINFORMATICS, S.L.U.
ANTONIO MATACHANA S.A.
STERILTECH, S.L.
ESTUDIO TÉCNICO Y CONTROL ANALÍTICO, S.L.
DYNAMIMED, S.L.
RETTENMAIER IBERICA, S.L. Y CIA SCOM
VIVOTECNIA
ANIMALARIA FyG, S.L.
SODISPAN RESEARCH, S.L.
IZASA, S.A.
COL.OFI. DE VETERINARIOS DE CADIZ
TEMINOX C.B.

Organizamos los cursos
(semipresencial y online)
que necesite su institución.

Matrícula reducida para
alumnos de su institución
y socios de SECAL.

*Una formación de calidad
para una investigación de
calidad*

*Su bienestar es nuestro
bienestar*

 sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

Con la colaboración de SECAL



Animalaria
Formación y Gestión S.L.

www.animalaria.org Tel.699921930

INDICE

EDITORIAL

8 NOTICIAS

- Actividades de la SECAL.
- I Congreso Ibérico para las Ciencias del Animal de Laboratorio (XIII Congreso SECAL- III Congreso SPCAL).

18 ACTUALIDAD

- La rapamicina mejora la plasticidad cerebral y la memoria en ratones con síndrome de Down.
- Hallan el 'código postal' del cáncer que decide el destino de las metástasis.
- Descubierta una nueva diana terapéutica para la depresión.

22 ARTÍCULOS

- La resonancia magnética nuclear en el seguimiento de tumores melanocíticos tratados con radioterapia y células madre mesenquimales.
- Recomendaciones para controles microbiológicos ambientales y de agua en un animalario.

38 TÉCNICAS

- Evaluación de diferentes fuentes de calor para dilatar las venas de la cola en muestreos de sangre en ratón.

42 ÉTICA Y LEGISLACIÓN

- Hoy, para cenar, salmón. ¡Transgénico, por supuesto!
- Uso de animales en experimentación. España 2014.

48 PANORAMA

- Medición de partículas en suspensión en alojamientos de roedores: un caso práctico.

53 FACTOR HUMANO

- Loa al Café laboral.

56 ALCUIDADO

- ¿Adiestramiento veterinario?

59 SEGURIDAD EN 5 MINUTOS

- Seguridad en la utilización de escaleras de mano.

64 ¿YTÚ QUÉ OPINAS?

- Refrigeración del semen canino mediante utilización de yema de huevo.

67 ENTREVISTA PÓSTUMA

- César Eguiluz Fernández De Valderrama.

69 CRUSECAL 68

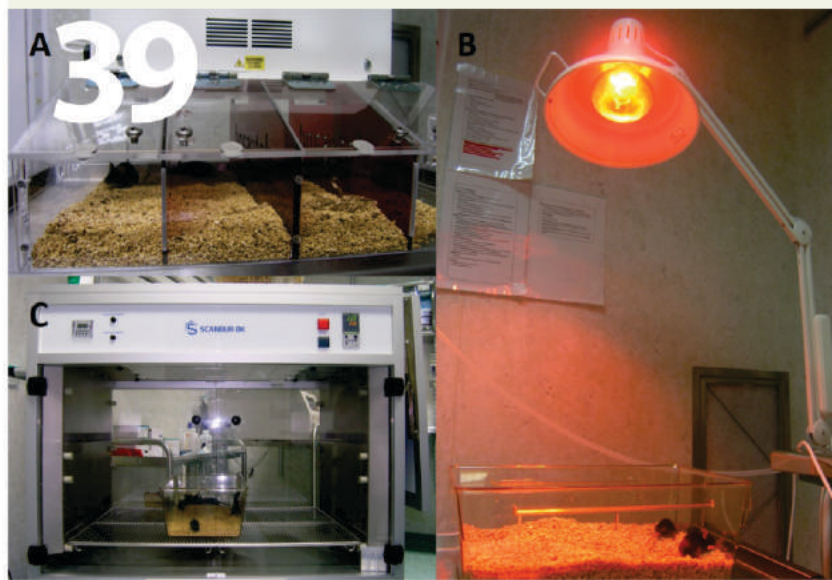




Foto: shutterstock

Un modelo al lado de los humanos

ESTA OVEJA Y SU CORDERO HAN CONTRIBUIDO, DE MANERA DECISIVA, EN EL DESARROLLO DE LA CIRUGÍA FETAL DESDE LA DÉCADA DE LOS 80.

Gracias al modelo experimental ovino, actualmente y en Hospitales españoles, se están corrigiendo de forma prenatal malformaciones letales para el feto o muy mutilantes para el futuro niño, como la hernia diafragmática congénita grave, las tumoraciones pulmonares y cervicales de gran tamaño, el teratoma sacrocoxígeo, las obstrucciones del sistema urinario, los problemas de las gestaciones de gemelos, el mielomeningocele o la espina bífida. Estas intervenciones fetales se hacen abriendo el útero, exteriorizando parcialmente el feto para operarlo y, posteriormente, cerrando la incisión uterina y materna.

Cáceres a la altura

Es un placer invitaros a participar en el I Congreso Ibérico de Ciencias del Animal de Laboratorio (XIII Congreso SECAL-III Congreso SPCAL). Así comenzaba la invitación que nos hacía María Reyes Panadero, Presidenta del Congreso. Y para ella y su equipo, el placer fue nuestro.

Placer que, como si de un curso académico se tratara, nos llevó por una serie de talleres, reuniones y conferencias magistrales que consiguieron no sólo llamar nuestra atención, sino también llenar nuestro afán de conocimiento, consecuencia cómo no, del magnífico programa científico.

Un resumen del desarrollo del congreso lo encontraréis en la sección de noticias. Y en las secciones de artículos y técnicas, encontraréis dos de los trabajos que fueron agraciados en los Premios a los mejores posters.

Una cita en portugués, español y portuñol, llena de experiencias que comenzaban en la parada del autobús, pasaban por el ámbito científico, y terminaban caminando por el extraordinario legado patrimonial del casco antiguo de la ciudad de Cáceres.

Gracias María, a ti y al Comité Organizador, que nos hicisteis sentir en casa.

Dirección Revista SECAL



Actividades de la SECAL

El 17 de noviembre de 2015 se celebró una Reunión Ordinaria de la Junta de Gobierno de la SECAL. Asimismo, el 19 de noviembre de 2015 y en transcurso del Congreso, se celebró la Asamblea General Ordinaria de la sociedad. Tras la Asamblea, se celebró una Reunión Extraordinaria con los nuevos miembros elegidos en la asamblea. A continuación, se presenta un resumen de los principales temas tratados en estas reuniones.

Relaciones internacionales

Laboratory Animals Ltd. (LAL)

Se informa que se aprobó el sistema de pago por franjas de porcentaje de suscripciones de manera que a mayor porcentaje de suscriptores más barata es la suscripción. Esto ha generado el establecimiento de dos cuotas de socio de SECAL, en función de si reciben o no la revista (95 € y 55 €, respectivamente). El coste de la revista será modificado cada año en función del porcentaje de suscriptores. Durante el 2016, el coste será el menor al contar el % de suscripción del 100% del año 2015.

Se informa también que durante el 2016 ya habrá seis ejemplares en lugar de cuatro, que en cada volumen habrá una sección para cada sociedad científica en el idioma propio y que poco a poco se va a ir dando un mayor peso a la versión electrónica.

International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS)

Se informa de que se han otorgado becas a personas del este de Europa para estancias formativas en centros de Europa occidental del Programa Europeo de Formación.

Se anima a los socios a visitar la web de ICLAS (www.iclas.org) para conocer todas las actividades que realiza esta sociedad.

Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA)

En relación a los grupos de trabajo se informa de lo siguiente:

- Grupos de trabajo finalizados:

- Análisis ético riesgo/beneficio (en colaboración con AALAS).
- Control sanitario para el intercambio de roedores (en colaboración con AALAS).
- Cefalópodos.

- Grupos de trabajo en funcionamiento:

- Clasificación de severidad y análisis retrospectivo (FELASA-ESLAV,-ECLAM).
- Monitorización sanitaria de primates no humanos.
- Pez cebra (FELASA-COST).
- Garantía de calidad y monitorización genética en roedores.
- Transporte (FELASA-AALAS).

- Grupos de trabajo nuevos:

- Animales salvajes y de granja.
- Monitorización sanitaria de peces en investigación (FELASA-AALAS).
- Bioseguridad en animales de laboratorio (SGV-FELASA).

También se informa que el congreso de FELASA 2016 será en Bruselas y que el congreso FELASA 2019 será en Praga.

Relaciones nacionales

Confederación de Sociedades Científicas de España (COSCE)

Se informa que la SECAL, como miembro de COSCE, participó en la generación del documento de comunicación en defensa de la investigación animal. Por otra parte, la SECAL también participa en el Proyecto DECIDES (Debates sobre ciencia y desarrollo económico y social), en el tema "La ética en la Ciencia" con Alberto Pastor como representante. Se informa que se ha establecido un grupo de trabajo para abordar diferentes requerimientos regulatorios, conflicto de intereses, integridad científica, asesoramiento, etc. con el fin de publicar documentos al respecto.

Relaciones con el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA) y el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO)

Se informa de las relaciones mantenidas con ambos ministerios a través de Pilar León (MAGRAMA) y Salvador Fortes (MINECO) y la participación de ambos en la mesa redonda que se celebró durante el congreso para responder a todas las preguntas planteadas por los socios.

Con el MAGRAMA se ha firmado un convenio de colaboración para formalizar la relación. Se recuerda que Pilar León es el contacto nacional de la Comisión Europea en Bruselas y que ya se han publicado las estadísticas del uso de animales en el 2014.

Otras actividades

Red Española de Responsables de Bienestar Animal (RERBA)

Esta iniciativa se puso en marcha en octubre de 2015 a petición de FELASA. Es un foro web gratuito que cuenta con 29 participantes. Pueden formar parte los Responsables de Bienestar Animal de los centros usuarios y se permite participar a un máximo de dos personas por centro usuario.

XIV Congreso de la SECAL

La sede del próximo congreso de la SECAL será en Las Palmas de Gran Canaria bajo la presidencia de Jose Luis Martín Barrasa.

Nombramiento de los cargos de la Junta de Gobierno (2015-2017)

Presidente: Antonio Martínez

Vicepresidente: Teresa Rodrigo

Secretario: Ángel Naranjo

Vicesecretaria: Clara Muñoz

Tesorerera: Carlota Largo

Vicetesorero: David Muñoz

Vocales: Juan Rodríguez, NorayBio, representado por Amaia Enbeita, María Reyes, Hernán Serna, Sergi Vila, José Luis Martín, Helena Paradell.



Foto: shutterstock

I Congreso Ibérico para las Ciencias del Animal de Laboratorio (XIII Congreso SECAL- III Congresso SPCAL)

I Congreso Ibérico para las Ciencias del Animal de Laboratorio (XIII Congreso SECAL- III Congresso SPCAL)

Del 17 al 20 de noviembre de 2015, se celebró en el Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón (CCMIJU) de Cáceres, el I Congreso Ibérico para las Ciencias del Animal de Laboratorio (XIII Congreso SECAL – III Congreso SPCAL), bajo el lema *Nuevas alianzas para una mejor ciencia*.

conferencias que se impartieron en el magnífico auditorio del Centro de Cirugía de Mínima Invasión (CCMIJU). Los participantes, tanto congresistas como ponentes, procedían de lugares tan dispares como España, Portugal, Colombia, Brasil, Estados Unidos, Francia, Reino Unido, Canadá, y Dinamarca.



Fotos: SecalSpcal2015

Este evento fue organizado conjuntamente por SECAL y SPCAL (Sociedad Portuguesa para las Ciencias del Animal de Laboratorio), gestado con la colaboración de ambas sociedades para favorecer el intercambio científico y tecnológico entre todas aquellas personas e instituciones que trabajan en este campo de la biociencia a un lado y otro de la frontera hispanolusa, y con la idea de propiciar el nacimiento de proyectos científicos de colaboración que beneficien a ambos países.

El congreso contó con la asistencia de más de 300 personas que participaron tanto en los 8 talleres organizados para el día previo a la inauguración (17 de noviembre), como en las distintas



Fotos: SecalSpcal2015

Los **talleres** impartidos contribuyeron a aumentar las competencias de los inscritos en temas como el refinamiento en microcirugía y técnicas microquirúrgicas, anestesia y ventilación mecánica en roedores, anestesia y ventilación mecánica en grandes animales, imagen diagnóstica en modelo animal grande con resonancia magnética y tomografía computerizada, técnicas de fertilización in vitro y vitrificación de embriones en modelo murino, técnicas de transferencia embrionaria en modelo murino, y diseño y desarrollo de un biobanco en un servicio de experimentación animal.

Todos ellos contaron con la oportunidad única de disponer de la más alta tecnología para la investigación, ya que la sede (el CCMIJU) es un centro internacional de referencia, especialmente en investigación quirúrgica. Este centro es una institución multidisciplinar dedicada a la investigación, formación e innovación en el ámbito sanitario, con amplia experiencia en investigación traslacional en campos como la laparoscopia, endoscopia, microcirugía, diagnóstico y terapéutica endoluminal, anestesiología, farmacología, bioingeniería y tecnologías sanitarias, terapia celular, y reproducción asistida.

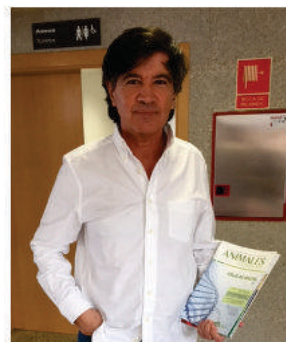
La mañana del miércoles 18 de noviembre se inauguró oficialmente el congreso, con la presencia del D. Vicente Alonso Núñez (Director General de Asistencia Sanitaria del Servicio Extremeño de Salud), Dr. Francisco M. Sánchez Margallo (Director Científico del CCMIJU), Dña. María Angélica García Gómez (Diputada de la Excm. Diputación Provincial de Cáceres), Dña. Isabel Vitoria Figueiredo (Presidenta de SPCAL), D. Javier Guillén (Presidente de SECAL), Dña. Ana Isabel Santos (Vicepresidenta del Comité Organizador) y Dña. María Reyes (Presidenta del Congreso).



Fotos: SecalSpcal2015



Foto: SecalSpcal2015



Fotos: SecalSpcal2015

Tras la ceremonia de apertura tuvo lugar la Conferencia Plenaria a cargo de Carlos López-Otín, que versó sobre los avances que se han conseguido hasta ahora en los modelos animales que ayudan a comprender y buscar terapias para distintas enfermedades humanas; en concreto modelos animales en ratón para la investigación del cáncer y el envejecimiento. El profesor Otín, múltiples veces galardonado, desarrolla en la actualidad una línea de investigación sobre biología tumoral, envejecimiento y análisis

I Congreso Ibérico para las Ciencias del Animal de Laboratorio (XIII Congreso SECAL- III Congresso SPCAL)

funcional de genomas; su grupo de trabajo ha permitido identificar más de sesenta nuevos genes humanos y el análisis de sus funciones en la progresión tumoral y en otros procesos patológicos. En su charla clarificó con datos el “porqué” todavía a día de hoy es imprescindible trabajar con animales en algunos campos de la biomedicina.

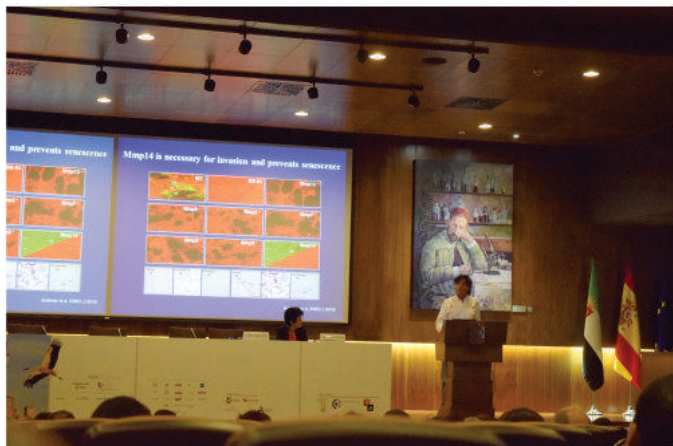
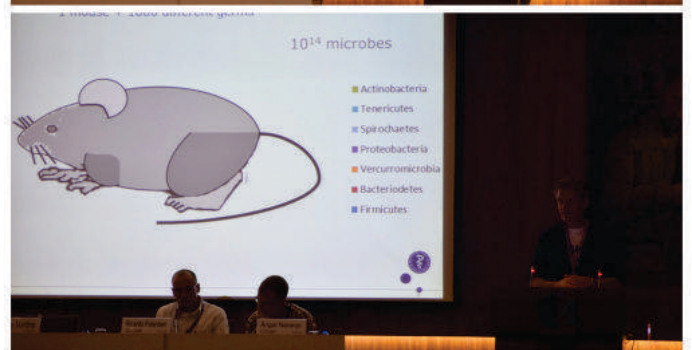


Foto: SecalSpcal2015

Tras la conferencia inaugural y a lo largo de tres días se desarrollaron un total de 10 **sesiones**. Los temas tratados durante las conferencias del congreso intentaron cubrir todos los aspectos relacionados con el animal de laboratorio: “Órganos encargados del bienestar de los animales y revisión ética”, “Peces: modelos y cuidados”, “Nuevos modelos en roedores y aplicaciones técnicas”, “Planificación de animalarios”, “Animales silvestres”, “Grandes animales: modelos quirúrgicos, preclínicos y veterinarios”, “Educación/formación/competencia”, “Control sanitario /Patología” y “Clasificación de la severidad/interpretación /aplicación”.



Foto: SecalSpcal2015



Fotos: SecalSpcal2015

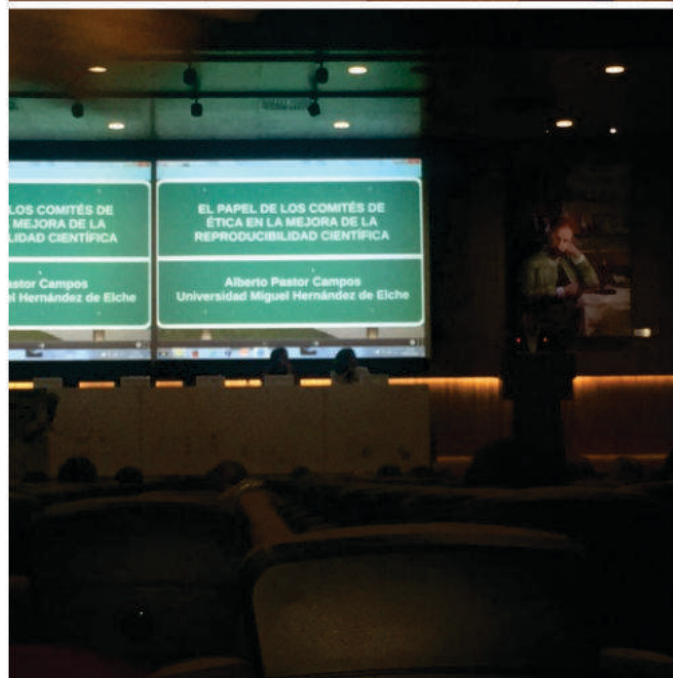


Foto: SecalSpcal2015

En cuanto a la aportación de comunicaciones, ésta cubrió claramente las expectativas, seleccionándose de entre todas las recibidas un total de 115, entre orales y pósteres. Dichas comunicaciones se encuadraron dentro los siguientes temas: marco ético y jurídico para el uso de los animales de laboratorio, bienestar de los animales de laboratorio, eutanasia, salud de los animales de laboratorio, modelos animales, animales genéticamente modificados (GM), anestesia-analgésia y cirugía, implementación de las 3Rs, diseño y gestión de las instalaciones para animales, salud y seguridad ocupacional, educación y formación en ciencias del animal de laboratorio, y miscelánea. Podéis consultar los resúmenes en el siguiente enlace de la revista *Laboratory Animals*:

http://lan.sagepub.com/content/49/3_suppl.toc



Fotos: SecalSpcal2015

I Congreso Ibérico para las Ciencias del Animal de Laboratorio (XIII Congreso SECAL- III Congresso SPCAL)



Foto: SecalSpcal2015

Una actividad que suscitó un gran interés fue la **Mesa redonda con las Autoridades Competentes** a nivel nacional, tanto de España como de Portugal, que se celebró la mañana del viernes con la presencia de Pilar León del MAGRAMA y Salvador Fortes del MINECO por parte de España, y en la que intentaron contestar las dudas y cuestiones enviadas por los socios en relación a la legislación vigente y a la aplicación diaria de la misma.



Foto: SecalSpcal2015

A mediodía del viernes 20 de noviembre tuvo lugar la Conferencia de Clausura a cargo de Manuel Berdoy, quien nos presentó un modelo de toma de decisiones en las revisiones éticas de los proyectos basado en el comportamiento grupal de las abejas.

Tras la conferencia, se celebró la ceremonia de clausura en cuyo transcurso se concedieron 6 premios a los mejores posters. El primer premio consistió en una dotación económica de 1.000 € que aportó la SPCAL, y los restantes premios consistieron en una inscripción gratuita aportada por SECAL a la plataforma E-Learning Library de AALAS.

Los posters premiados fueron los siguientes:

1º Premio: *"Magnetic resonance imaging in the follow up of melanocytic tumors treated with hMSC and radiotherapy."*, cuyos autores son A. Nieto, V. de A. Farias, J.J. López-Peñalver, A. Fernández, M. Tassi, A.M. Santos, F. O'Valle y J.M. Ruiz de Almodovar, y que se presenta en la sección de Artículos de este número de la revista.



Foto: SecalSpcal2015

2º Premio: *Assessment of different heat sources for blood sampling in mice.* Autores: M. Jiménez, V. Solís, C. Muños, J. Sparrowe, J. Sánchez, I. Camino, R. García y A. Martínez. Este trabajo se presenta en la sección de Técnicas de la presente revista.



Foto: SecalSpcal2015

4º Premio: *New Pneumoperitoneum Neonatal Animal Model.* Autores: A. Miranda, J.M. Pêgo y J. Correia-Pinto.



Foto: SecalSpcal2015

3º Premio: *Can different depths of anaesthesia influence recognition memory in mice?* Autores: J. Ferreria, A. Olsson y A. Valentim.



Foto: SecalSpcal2015

5º Premio: *Different laboratory mouse strains show distinct coronary artery patterns.* Autores: M.C. Fernández, A. López-García, M. Lorenzale, V. Snas-Coma, A.C. Durán y B. Fernández.



Foto: SecalSpcal2015

I Congreso Ibérico para las Ciencias del Animal de Laboratorio (XIII Congreso SECAL- III Congresso SPCAL)

6º Premio: *Animal model for studying regenerative maturation and permeability of vascular grafts from porcine intertinal submucosa (SIS) vascular acces for hemodialysis.* Autores: V. T. Karen Rivero, S. David Galvis, G. Ruiz Arturo, S. Néstor, J. Camacho y J. Briceno Carlos.



Foto: SecalSpcal2015

También se contó con la participación de un buen número de empresas que ocuparon 33 stands situados estratégicamente en una extensa exposición comercial, y que mostraron "en vivo y en directo" todos los avances tecnológicos que se ofrecen actualmente en este ámbito de investigación; sus ofertas abarcaban desde el refinamiento en la fabricación de distintos tipos de lechos, hasta los últimos avances en técnicas de diagnóstico por imagen, pasando por los distintos sistemas de estabulación de animales, sistemas informáticos para la gestión integral de un animalario, sistemas de extracción de muestras, modelos animales, etc... Dichas empresas procedían de España, Portugal, Alemania, Estados Unidos, Italia, Francia y Estonia.



Fotos: SecalSpcal2015

Y no menos excelente fue el programa social, que incluyó la visita guiada a la Ciudad Monumental de Cáceres y la Cena del Congreso en el encantador Castillo de la Argujuela, proporcionando momentos lúdicos de los que disfrutar con compañeros y amigos.



Fotos: SecalSpcal2015

Nuestra enhorabuena a los Comités Organizador y Científico, y en especial a María Reyes, Presidenta del Congreso, por el éxito conseguido.



Fotos: SecalSpcal2015

TÚ TAMBIÉN
PUEDES SER
PARTE DE
LA SECAL
¡HAZTE SOCIO!

www.secal.es

SECAL sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

La rapamicina mejora la plasticidad cerebral y la memoria en ratones con síndrome de Down

Un trabajo realizado por los grupos de Neurociencia Celular y Plasticidad de la Universidad Pablo de Olavide (UPO) y de Traducción Sináptica Local de la Universidad de Sevilla (US) ha puesto de manifiesto que la rapamicina participa en la síntesis de proteínas necesarias para los procesos de aprendizaje y memoria, y en el desarrollo de procesos de plasticidad cerebral.

«El estudio, publicado en la revista *Neurobiology of Disease*, muestra mediante análisis de comportamiento y registros electrofisiológicos de plasticidad cerebral, que algunos de los déficits de memoria y de plasticidad que se observan en ratones modelo del síndrome de Down revierten mediante el tratamiento con rapamicina»

El síndrome de Down es la discapacidad intelectual genética más frecuente con déficits de memoria que contribuyen significativamente a la disfunción cognitiva. El modelo de ratón de síndrome de Down presenta déficits tanto en la plasticidad sináptica como en la persistencia de la memoria espacial a largo plazo.

Se ha estudiado un tipo de plasticidad cerebral (BDNF-LTP) - una forma de potenciación de la transmisión sináptica de larga duración mediada por la neurotrofina BDNF (del inglés *brain-derived neurotrophic factor*)- en las sinapsis hipocámpales establecidas entre las neuronas del área CA3 y las neuronas del área CA1, tanto en ratones silvestres como en ratones modelo del síndrome de Down.

Los investigadores han observado, mediante la obtención de registros electrofisiológicos en cortes de cerebro, que en los ratones silvestres la aplicación exógena de BDNF induce cambios plásticos ausentes en los ratones modelo de síndrome de Down. Sorprendentemente, cuando el cerebro de los ratones con el trastorno se trata con rapamicina, la aplicación de BDNF induce cambios plásticos (BDNF-LTP) similares a los observados en ratones silvestres. La plasticidad rescatada por el fármaco involucra las mismas vías de señalización que las observadas en ratones silvestres y es dependiente de síntesis local de proteínas.

Los estudios comportamentales realizados en ambos grupos evidencian la posible utilidad terapéutica de la rapamicina. Los ratones modelo de síndrome de Down muestran un déficit en la realización del laberinto de Barnes, una prueba de memoria que involucra el hipocampo y que permite estudiar aprendizaje, memoria espacial, memoria de trabajo y de referencia, y memoria a corto y largo plazo. De manera notable, el tratamiento de estos ratones con rapamicina rescata la persistencia de la memoria de larga duración.

Estos resultados sugieren que este fármaco puede ser un nuevo producto farmacoterápico capaz de mejorar déficits cognitivos.



Foto: Shutterstock

<http://www.agenciasinc.es/Noticias/La-rapamicina-mejora-la-plasticidad-cerebral-y-la-memoria-en-ratones-con-sindrome-de-Down>

<http://noticiasdelaciencia.com/not/16996/la-rapamicina-mejora-la-plasticidad-cerebral-y-la-memoria-en-ratones-modelo-del-sindrome-de-down/>

Andrade-Talavera Y., Benito I., Casañas JJ., et al. *Rapamycin restores BDNF-LTP and the persistence of long-term memory in a model of Down's syndrome*. *Neurobiology of Disease* 2015, 82:516-25.

Hallan el 'código postal' del cáncer que decide el destino de las metástasis

Entender por qué un tumor genera metástasis en unos órganos y no en otros es una de las mayores aspiraciones de la oncología, y también una de las más antiguas. Hace 126 años, el médico británico Stephen Paget formuló su teoría de semilla y sustrato, que defiende que la metástasis necesita células tumorales (semillas) que se dispersan y un ambiente acogedor (un sustrato fértil) en el órgano de destino.

En los últimos años, Héctor Peinado (del Grupo de Microambiente y Metástasis del CNIO) ha desarrollado junto con David Lyden (del Weill Cornell Medical College) y Jaqueline Bromberg (del Memorial Sloan Kettering Cancer Center) una teoría que se apoya y amplía la teoría de semilla y sustrato de Paget.

«Según los autores, hay indicios de que los tumores emiten millones de vesículas cargadas con una representación de sus proteínas y su contenido genético, llamadas exosomas, a modo de naves mensajeras o destacamentos; y son estos exosomas los que se ocupan de que los órganos de destino estén preparados para acoger las células tumorales»

Los exosomas desencadenan en el órgano de destino la respuesta molecular necesaria -inflamación y vascularización- para acoger las células tumorales, de forma que cuando éstas lleguen puedan proliferar.

“Este mecanismo que postulamos era hasta ahora desconocido en la formación de nichos metastásicos”, explica Peinado. El trabajo actual corrobora su existencia, porque confirma que los exosomas tienen un papel crucial en la formación de las metástasis.

De los millones de exosomas que parten del tumor sólo algunos anidan, y además no lo hacen en un órgano al azar, sino en algunos más que en otros. ¿Por qué? ¿Podría ser que los exosomas, los destacamentos del tumor, lleven etiquetas moleculares que de alguna manera los dirigieran a órganos específicos?

Para investigar la hipótesis de las etiquetas de destino, los autores escogieron varias líneas celulares procedentes de una decena de tumores distintos y de los que se sabe que algunos metastatizan a órganos concretos (pulmón, hígado, cerebro o hueso). Analizaron las proteínas de sus exosomas (casi un millar) en busca de las que podrían cumplir esa función de código postal.

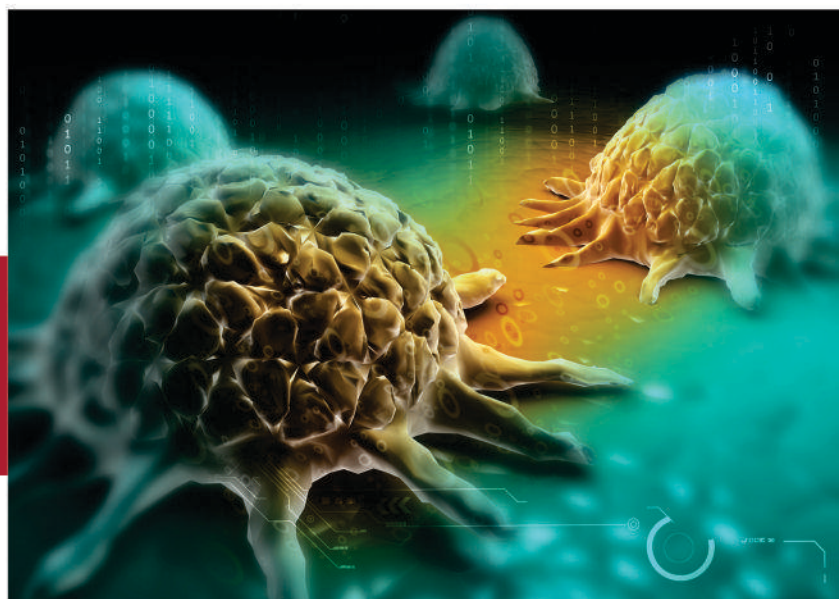


Foto: shutterstock

Se focalizaron en una familia de proteínas llamadas integrinas, porque están en la membrana de los exosomas, donde teóricamente debería estar una etiqueta de destino. De entre un millar de proteínas encontraron que, efectivamente, hay combinaciones específicas de integrinas asociadas con metástasis en pulmón y con metástasis en hígado.

Como señala Peinado, “hemos determinado que existe una combinación de integrinas en los exosomas tumorales que predispone la formación de nichos metastásicos en órganos concretos”.

Si se engaña a un tumor cambiándole el código de destino, colonizará el órgano que se le indique. Esto se ha probado con células tumorales que normalmente irían al hueso y que tras la intervención de los investigadores se dirigen al pulmón. Estos datos apoyan que el sustrato es igual de importante que la semilla en el proceso metastásico.

Otra evidencia de la importancia de las integrinas en el anidamiento de la metástasis es que si se bloquean integrinas específicas en tumores que metastatizan a órganos concretos - por ejemplo cáncer de mama a pulmón y cáncer de páncreas a hígado- se reduce la metástasis en esos órganos.

Además, han descubierto las señales moleculares que median la reacción del tejido de destino cuando llegan los exosomas. En concreto, estas señales implican el aumento de genes de la familia S100, conocidos por promover señales inflamatorias, un proceso que se asocia con el cáncer.

El trabajo se ha hecho con líneas celulares tumorales humanas y de ratón, con modelos preclínicos murinos y con plasma de pacientes con cáncer, lo que ha permitido estudiar, de forma preliminar, el poder predictivo de las integrinas identificadas; es decir, si sólo analizando las integrinas de los exosomas se puede saber en qué órganos podría haber metástasis.

Peinado, sin embargo, es cauto. El código postal detectado no funciona al 100%, sino que más bien "predispone el órgano de destino". Desbaratar este código se ha hecho en ratones mediante una modificación genética, pero es mucho más complicado de lograr en humanos. "En personas no es tan trivial, porque estas proteínas tienen otras funciones. Las células de la médula ósea utilizan estas integrinas para moverse por el cuerpo y bloquearlas podría tener efectos colaterales, como una hemorragia", admite Peinado.

El grupo del Weill Cornell Medical College está trabajando con la industria farmacéutica para encontrar fármacos que bloqueen el código postal sólo en las células tumorales.

<http://www.agenciasinc.es/Noticias/Hallan-el-codigo-postal-del-cancer-que-decide-el-destino-de-las-metastasis>

http://elpais.com/elpais/2015/10/28/ciencia/1446054981_109600.html

Hoshino A., Costa-Silva B., Shen T-L., et al. **Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis.** Nature 2015, 527:329-35. DOI:10.1038/Nature15756.

Tan cerca como ellos, del personal del animalario.

Anúnciese en ANIMALES DE LABORATORIO, la revista en habla hispana más importante del sector y posicione sus productos directamente en manos de los animalarios.



www.secal.es



Foto: shutterstock

Descubierta una nueva diana terapéutica para la depresión

La depresión es un importante problema de salud pública en la sociedad moderna. Sin embargo, poco se sabe sobre el vínculo molecular entre esta condición y la neuroinflamación. Recientemente, miembros del grupo de investigación Etiología y Patogenia Periodontal, Patología Oral y Enfermedades Musculares de la Universidad de Sevilla han demostrado que existe una relación directa entre el complejo inflamasoma y la depresión.

Este estudio, publicado en *Molecular Neurobiology*, demuestra el papel del inflamasoma -estructura conformada por proteínas intracelulares implicadas en el inicio de la respuesta inflamatoria por estímulo intracelular- en la depresión inducida por el estrés.

« El efecto del estrés requiere de la activación del gen NLRP3 del complejo inflamasoma, así como la activación de unas células del sistema nervioso llamadas microglías »

El trabajo describe cómo la misma activación de la microglía durante la neuroinflamación en la depresión requiere que el gen NLRP3 sea completamente funcional para producir los síntomas. De acuerdo con estos resultados, el NLRP3 podría ser un objetivo de nuevas intervenciones terapéuticas para prevenir la depresión en los pacientes.

“Nuestra investigación confirma el papel que tiene NLRP3 en la fisiopatología de la depresión, así como una nueva diana terapéutica. La inhibición de NLRP3 y de la microglía podría suponer un nuevo tratamiento de esta enfermedad”, afirma Mario D. Cordero, profesor de la Universidad de Sevilla.

Según los expertos, la exposición prolongada a estrés provoca significativos síntomas depresivos, así como neuroinflamación, activación de la microglía e inhibición de la neurogénesis en el hipocampo y córtex prefrontal en ratones sanos.

Estos hallazgos no sólo no fueron observados en ratones en los que previamente se había eliminado el gen NLRP3, sino que además no se vio afectada la activación de la microglía y pérdida de la neurogénesis. “La inhibición farmacológica de la microglía ejerció también un efecto protector sobre la depresión”, añade Cordero.



Foto: shutterstock

<http://www.agenciasinc.es/Noticias/Descubierta-una-nueva-diana-terapeutica-para-la-depresion>

Alcocer-Gómez E., Ulecia-Morón C., Marín-Aguilar F., et al. **Stress-induced depressive behaviors require a functional NLRP3-inflammasome.** *Molecular Neurobiology* 2015, DOI: 10.1007/s12035-015-9408-7.

La resonancia magnética nuclear en el seguimiento de tumores melanocíticos tratados con radioterapia y células madre mesenquimales

V. de A. Farias^{1,2}, A. Nieto^{1,3}, J.J. López-Peñalver^{1,4}, A. Fernández^{1,5}, M. Tassi^{1,6}, A.M. Santos^{1,6}, F. O'Valle² y J.M. Ruiz de Almodovar^{1,7}

¹ Instituto Universitario de Investigación en Biopatología y Medicina Regenerativa, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada (UGR)

² Instituto de Parasitología y Biomedicina "López Neyra", Consejo Superior de Investigaciones Científicas

³ Unidad de Experimentación Animal, Centro de Instrumentación Científica, CIBM, UGR

⁴ Unidad de radiología experimental, Centro de Instrumentación Científica, CIBM, UGR

⁵ Unidad de resonancia magnética nuclear animal, Centro de Instrumentación Científica, CIBM, UGR

⁶ Unidad de Microscopía, Centro de Instrumentación Científica, CIBM, UGR

⁷ Hospital Universitario San Cecilio

INTRODUCCIÓN

La radioterapia se utiliza ampliamente en el tratamiento del cáncer y causa reducción de la supervivencia de las células tumorales a través de los daños causados al ADN (1-3), y de sus consecuencias a nivel celular (3) y tisular (4,5). El conocimiento de los mecanismos mediante los que la radiación induce la muerte celular se basa en datos de la supervivencia celular y del daño celular inducido por la radiación (6-9), y en las consecuencias que este daño genera tanto en las células tumorales (10), como a nivel de los tejidos normales (11,12).

Los modelos propuestos para explicar el resultado de la radioterapia sobre el crecimiento del tumor y los efectos adversos ocasionados, hacen pensar que, además de los daños radioinducidos en el ADN (13), los procesos de señalización celular promovidos por la radiación y que alcanzan localizaciones situadas fuera de la región irradiada – efectos abscopal y bystander (14,15) – pueden ser cruciales en el efecto global de la radioterapia (16-19), lo que incrementa la eficacia del tratamiento y podrían ser, incluso, una condición necesaria para su éxito (20,21). Este efecto se conoce como efecto *bystander* y se ha descrito en varias ocasiones tanto en pacientes tratados con radioterapia (22-24), como en modelos experimentales *in vitro* (20,25,26) e *in vivo* (27,28).

Se sabe que las células madre mesenquimales (MSC siglas en inglés de *mesenchymal stem cell*) tienen la capacidad de migrar hacia los sitios de tumorigénesis activa. Por otro lado, el propio microambiente tumoral produce y secreta, constantemente, una serie de factores como citoquinas inflamatorias, factores de

crecimiento y factores pro-angiogénicos (29), capaces de atraer a las MSC al sitio del tumor. Cuando el tumor recibe tratamiento radioterápico, la capacidad de migración de las MSC hacia los tumores se incrementa (30).

En varios estudios se ha descrito la utilización de células MSC modificadas genéticamente como vectores de moléculas citotóxicas para que, sobreexpresando moléculas tumorocitóticas como TRAIL, puedan ser utilizadas como vectores y provocar, así, la supresión de tumores (31), o mediante su "activación", previa a la terapia, aumenten el efecto anti-tumoral de las MSC (32) eludiendo así la necesidad de modificarlas genéticamente. Por ejemplo, tras la activación de las MSC en respuesta al daño celular, éstas adquieren movilidad, entran en un estado de activación, y son capaces de secretar factores que proporcionan un microambiente celular terapéutico (33,34). La bioactivación de las células MSC se puede conseguir a través de diferentes tratamientos, secretando moléculas que son capaces de afectar a una variedad de células de linaje inmunológico (32).

Las MSC, aunque son extremadamente sensibles a la radiación ionizante, son resistentes al efecto bystander inducido por el medio condicionado por células tumorales irradiadas (20,35), y pueden ser activadas con dosis bajas de radiación, para convertirse en una fuente de factores citotóxicos que reducen la supervivencia de líneas celulares de melanoma *in vitro* (27). Cuando se las administra a ratones inmunodeprimidos NOD Scid Gamma (NSGTM) con tumores xenotransplantados subcutáneamente y se irradia uno de los tumores, el efecto de la radioterapia y el efecto bystander causado por la radioterapia se ven potenciados por la acción de las MSC (27).

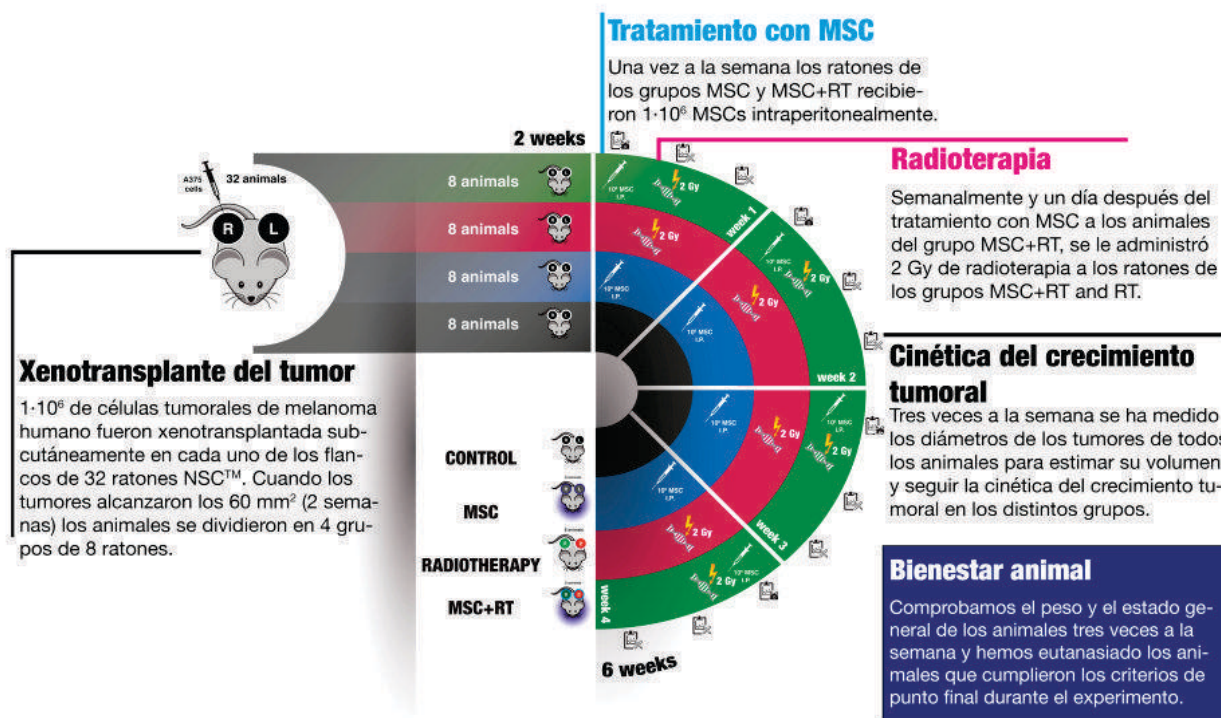


Figura 1.- Esquema experimental del estudio.

Imagen suministrada por la autoría

Sin embargo, no sabemos el efecto que ejerce el tratamiento de los tumores subcutáneos con radioterapia y células madre activadas por radiación sobre la formación de metástasis en los órganos del animal. En este sentido, hemos realizado un estudio piloto para evaluar, microscópicamente, la presencia de metástasis en los modelos de investigación anteriormente utilizados mediante el empleo de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN), al objeto de intentar visualizar la presencia de metástasis en los diversos órganos del animal durante el curso del experimento, sin la necesidad de sacrificarlos, reduciendo el número de ratones necesarios para llevar a cabo el trabajo de investigación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para evaluar la capacidad de formar metástasis en el modelo animal se han inoculado 1·10⁶ células tumorales de melanoma, líneas A375 y G361, subcutáneamente en ambos flancos de ratones machos inmunodeprimidos NSGTM. Estos animales se han alojado en rack microventilados y los procedimientos se han realizado siguiendo siempre las directrices establecidas en el RD 53/2013, con la aprobación del Comité Ético correspondiente. Los ratones se dividieron en 4 grupos de 8 animales. Los ratones del

grupo control no recibieron tratamiento durante todo el experimento; los del grupo MSC recibieron una vez a la semana 1·10⁶ células MSC intraperitonealmente; los animales del grupo RT recibieron una dosis de 2 Gy de radioterapia, una vez a la semana, en uno de los tumores inoculados; los del grupo MSC+RT fueron tratados con 1·10⁶ MSC inyectadas por vía intraperitoneal el día anterior al tratamiento de radioterapia con una dosis de 2 Gy en uno de los dos tumores inoculados. Los tratamientos se administraron durante 4 semanas consecutivas. En ese momento fueron examinados por RMN para identificar la presencia de metástasis, que fueron posteriormente confirmadas con un estudio histopatológico de los tejidos de los animales.

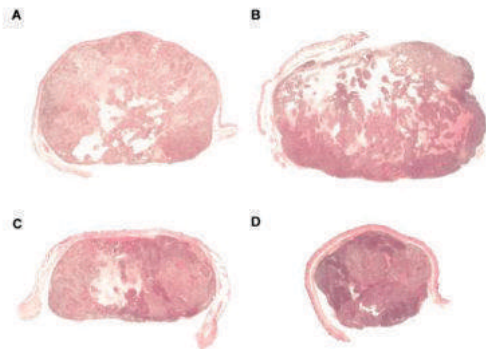
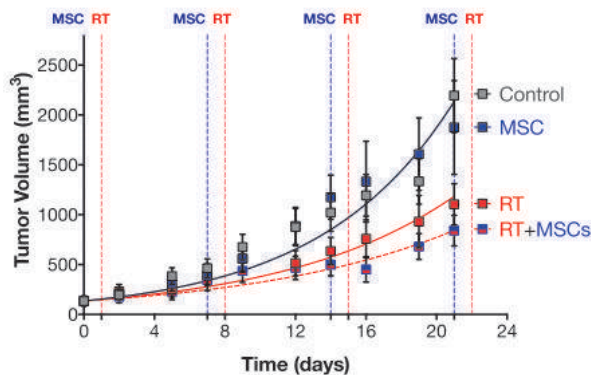
En varios ratones, se administró gadolinio por vía intravenosa durante la exploración por RMN, para estudiar la cinética de aparición del agente de contraste en diferentes órganos. Los medios de contraste basados en gadolinio son capaces de mejorar el contraste en las imágenes acortando significativamente el valor del T1 en los protones del agua adyacentes, y produciendo variaciones de susceptibilidad y, por tanto, desfase y caída del T2. De esta manera aportan información sobre los cambios de perfusión tisular y el metabolismo, aumentando tanto la sensibilidad como la especificidad diagnóstica.

Con el propósito de buscar elementos diferenciales entre distintas regiones del tumor y los tejidos sanos, hemos sometido a estudio la cinética de captación y de eliminación de gadolinio en el riñón, el hígado, el músculo, la vejiga urinaria y dos zonas distintas del tumor: la primera sugerente del predominio de células viables y con vascularización adecuada, y la segunda caracterizada por importantes zonas de necrosis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las células madre humanas potencian la acción de la radioterapia cuando son inyectadas en animales con tumores subcutáneos.

En todos los casos, los ratones NSG™ con xenotumores implantados en ambos flancos que recibieron el tratamiento combinado con las MSC seguido de 2 Gy de radioterapia, presentaron tumores de menor tamaño y mejor aspecto general que los animales de los demás grupos. En la Figura 2 se ilustra la cinética de crecimiento de los tumores en los distintos grupos de tratamiento y su tamaño al final del experimento.



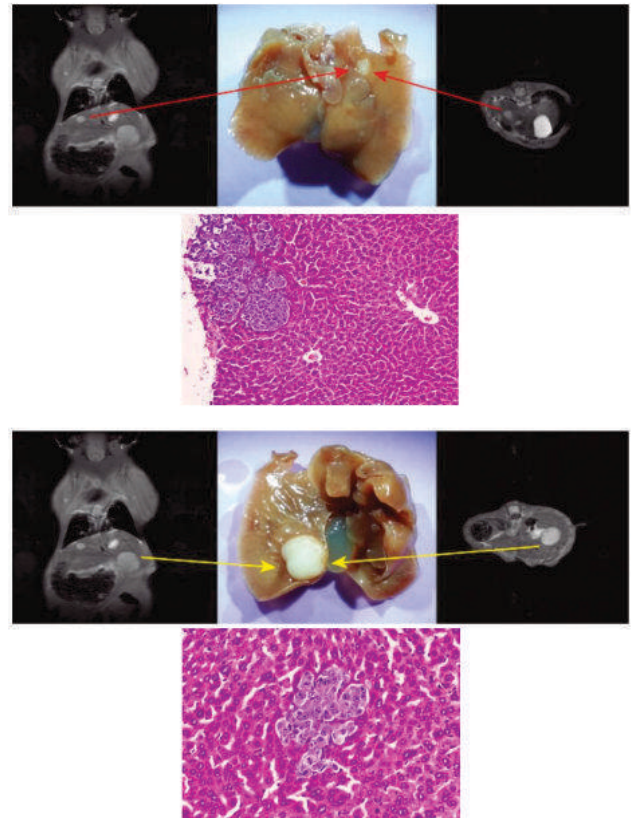
Imágenes suministrada por la autoría

Figura 2.- Gráfica representativa de la cinética del crecimiento tumoral de los distintos grupos de tratamiento. Imágenes panorámicas representativas de cortes de los tumores de cada uno de los grupos al final del experimento teñidos con hematoxilina-eosina (A) Control, (B) MSC, (C) RT y (D) MSC+RT.

El tratamiento con únicamente MSC no ha aportado diferencias significativas en la cinética de crecimiento tumoral con respecto al grupo control ($p=0.9829$). Sin embargo, cuando al tratamiento con MSC se le ha combinado la radioterapia en uno de los tumores, la cinética de crecimiento tumoral ha sido significativamente inferior a la de los demás grupos (Control: $p<0.0001$; MSC: $p<0.0001$; RT: $p=0.0080$).

La resonancia magnética nuclear permite la detección de metástasis en los órganos del animal con tumores subcutáneos.

La línea celular A375 fue la única capaz de producir metástasis en los ratones al final de las 4 semanas de duración del experimento. En la Figura 3 se ilustran las metástasis encontradas en el hígado del animal durante la exploración por RMN, y que fueron confirmadas posteriormente durante la necropsia y el estudio histopatológico que se realizó en los tejidos de los ratones al término del experimento.



Imágenes suministrada por la autoría

Figura 3.- Imágenes de RMN en las que es posible identificar las metástasis en hígado en el ratón, que se han confirmado posteriormente durante la necropsia y el estudio histopatológico de los tejidos del animal.

La cinética de la aparición del gadolinio en diferentes órganos y en los tumores permite determinar el grado de vascularización de los tumores.

En la captación del contraste de gadolinio por el riñón se observa una acumulación muy rápida del gadolinio en la zona de la corteza renal y después, hacia la zona de la pelvis, donde se rellenan los cálices renales para pasar, a través del uréter, a la vejiga urinaria donde la señal correspondiente a la llegada del contraste se observa con toda claridad por el aumento brusco de la pendiente de la curva de intensidad de gadolinio tomada de la vejiga (Figura 4 B y E, en azul) y consiguientemente, por el aplanamiento de la curva tomada en el área renal (Figura 4 A y E, en verde), fenómeno que indica que durante ese tiempo la velocidad de captación del contraste por el riñón se iguala a la velocidad de eliminación del mismo a través del uréter.

Como ejemplo de la presencia del contraste en un órgano sin capacidad excretora del gadolinio, hemos evaluado la dinámica de la señal del gadolinio en función del tiempo sobre un área de interés situada a nivel del hígado (Figura 4 C y E, en naranja) y otra sobre la masa muscular de la pata del ratón (Figura 4 B y E, en amarillo). En ambos casos, las curvas muestran un incremento brusco de la señal que se asocia con la llegada del medio de contraste vía arterial al área de interés, y una relativa estabilización de la intensidad de la señal a lo largo del tiempo (Figura 4 B, C y E, en amarillo la zona muscular y su curva, y en naranja la zona y curva relativas al hígado). Esto refleja el paso del contraste al espacio extravascular en el que su tiempo de residencia es poco prolongado y que permite la detección de imágenes del tumor. En estas imágenes es posible diferenciar el grado de vascularización de ambos tumores (Figura 4 D y F).

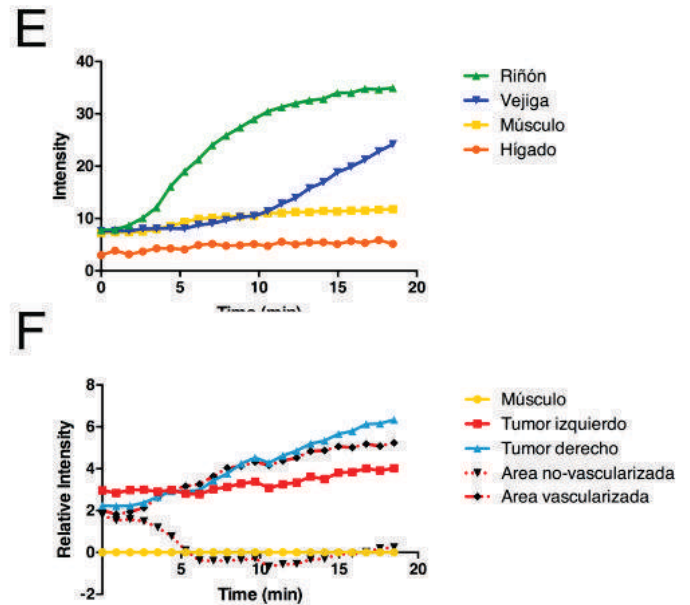
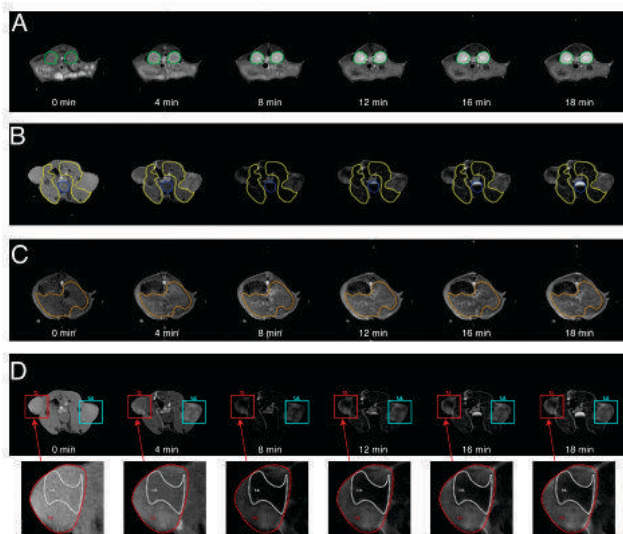


Figura 4.- Imágenes a lo largo del tiempo de la cinética de la captación del gadolinio. (A) el área señalada en verde se corresponde a los riñones, (B) en amarillo la zona muscular, en azul la vejiga y (C) en naranja el hígado. (D) en los cuadros rojos y azules se observan los tumores en los flancos izquierdo (t.i) y derecho (t.d.), respectivamente. En el tumor izquierdo se observan, con detalle, las regiones vascularizada (r.v), en rojo, y no-vascularizada, en blanco. (E) Gráfica de la cinética de captación del gadolinio en los distintos tejidos del animal. (F) Evolución de la intensidad del agente contraste en los tumores y de las áreas vascularizada y no-vascularizada del tumor izquierdo con respecto al músculo.

CONCLUSIÓN

El gadolinio nos proporciona una aproximación al conocimiento de la vascularización del tumor y nos ayuda a discriminar entre zonas activas y zonas de necrosis tumoral, permitiéndonos comparar los grupos de tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Peacock J.H., et al. The nature of the initial slope of radiation cell survival curves. BJR supplement / BIR 1992, 24:57-60.
2. Siles E., et al. Relationship between p53 status and radiosensitivity in human tumour cell lines. British Journal of Cancer 1996, 73(5):581-8.
3. Steel G.G. Cell loss as a factor in the growth rate of human tumours. European Journal of Cancer 1967, 3(4):381-7.
4. López E., et al. Breast cancer acute radiotherapy morbidity evaluated by different scoring systems. Breast Cancer Res. Treat. 2002, 73(2):127-34.
5. López E., et al. Early and late skin reactions to radiotherapy for breast cancer and their correlation with radiation-induced DNA damage in lymphocytes. Breast Cancer Research:BCR 2005, 7(5):8.

6. Peacock J.H., et al. *The nature of the initial slope of radiation cell survival curves.* BJR Suppl. 1992, 24:57-60.
7. Ruiz de Almodovar J.M., et al. *Initial radiation-induced DNA damage in human tumour cell lines: a correlation with intrinsic cellular radiosensitivity.* Br J. Cancer 1994, 69(3):457-62.
8. Ruiz de Almodovar J.M., et al. *A comparison of methods for calculating DNA double-strand break induction frequency in mammalian cells by pulsed-field gel electrophoresis.* Int. J. Radiat. Biol. 1994, 65(6):641-9.
9. Steel G.G., McMillan T.J., and Peacock J.H. *The 5Rs of radiobiology.* Int. J. Radiat. Biol. 1989, 56(6):1045-8.
10. McMillan T.J. and Peacock J.H. *Molecular determinants of radiosensitivity in mammalian cells.* Int. J. Radiat. Biol. 1994, 65(1):49-55.
11. Lopez E., et al. *Early and late skin reactions to radiotherapy for breast cancer and their correlation with radiation-induced DNA damage in lymphocytes.* Breast Cancer Res. 2005, 7(5):R690-8.
12. Lopez E., et al. *Breast cancer acute radiotherapy morbidity evaluated by different scoring systems.* Breast Cancer Res. Treat. 2002, 73(2):127-34.
13. McMillan T.J., et al. *The use of DNA double-strand break quantification in radiotherapy.* Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2001, 49(2):373-7.
14. Mothersill C. and Seymour C. *Medium from irradiated human epithelial cells but not human fibroblasts reduces the clonogenic survival of unirradiated cells.* Int. J. Radiat. Biol. 1997, 71(4):421-7.
15. Mothersill C. and Seymour C. *Radiation-induced bystander effects--implications for cancer.* Nat. Rev. Cancer 2004, 4(2):158-64.
16. Gomez-Millan J., et al. *The importance of bystander effects in radiation therapy in melanoma skin-cancer cells and umbilical-cord stromal stem cells.* Radiother. Oncol. 2012, 102(3):450-8.
17. Seymour C.B. and Mothersill C. *Radiation-induced bystander effects - implications for cancer.* Nature Reviews Cancer 2004, 4(2): 158-64.
18. Formenti S.C. and Demaria S. *Systemic effects of local radiotherapy.* The Lancet Oncology 2009, 10(7):718-26.
19. Azzam E.I., Toledo S.M., and Little J.B. *Direct evidence for the participation of gap junction-mediated intercellular communication in the transmission of damage signals from α -particle irradiated to nonirradiated cells.* Proceedings of the National Academy of Sciences 2001, 98(2):473-8.
20. Gómez-Millán J., et al. *The importance of bystander effects in radiation therapy in melanoma skin-cancer cells and umbilical-cord stromal stem cells.* Radiotherapy and Oncology: Journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology 2012, 102(3):450-8.
21. Begg A.C., Stewart F.A., and Vens C. *Strategies to improve radiotherapy with targeted drugs.* Nature Reviews. Cancer 2011, 11(4):239-53.
22. Postow M.A., et al. *Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma.* The New England Journal of Medicine 2012, 366(10):925-31.
23. Stamell E.F., et al. *The abscopal effect associated with a systemic anti-melanoma immune response.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2013, 85(2):293-5.
24. Ishiyama H., et al. *Spontaneous regression of thoracic metastases while progression of brain metastases after stereotactic radiosurgery and stereotactic body radiotherapy for metastatic renal cell carcinoma: abscopal effect prevented by the blood-brain barrier?* Clinical Genitourinary Cancer 2012, 10(3):196-8.
25. Dickey J.S., et al. *Intercellular communication of cellular stress monitored by gamma-H2AX induction.* Carcinogenesis 2009, 30(10):1686-95.
26. Koturbash I., et al. *Irradiation induces DNA damage and modulates epigenetic effectors in distant bystander tissue in vivo.* Oncogene 2006, 25(31):4267-75.
27. Farias V.d.A.A., et al. *Human mesenchymal stem cells enhance the systemic effects of radiotherapy.* Oncotarget 2015, 6(31):31164-80.
28. Sugihara T., et al. *In vivo partial bystander study in a mouse model by chronic medium-dose-rate γ -ray irradiation.* Radiation Research 2013, 179(2):221-31.
29. Hong I.-S., Lee H.-Y., and Kang K.-S. *Mesenchymal stem cells and cancer: Friends or enemies?* Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 2014, 768:98-106.
30. Kim S.M., et al. *Irradiation enhances the tumor tropism and therapeutic potential of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-secreting human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in glioma therapy.* Stem Cells 2010, 28(12):2217-28.
31. Sage E.K., et al. *Systemic but not topical TRAIL-expressing mesenchymal stem cells reduce tumour growth in malignant mesothelioma.* Thorax 2014, 69(7):638-47.
32. Lee R.H., et al. *Preactivation of human MSCs with TNF- α enhances tumor-suppressive activity.* Cell Stem Cell 2012, 11(6):825-35.
33. Caplan A.I. and Dennis J.E. *Mesenchymal stem cells as trophic mediators.* Journal of Cellular Biochemistry 2006, 98(5):1076-84.
34. Kanehira M., et al. *Human marrow stromal cells downsize the stem cell fraction of lung cancers by fibroblast growth factor 10.* Molecular and Cellular Biology 2014, 34(15):2848-56.
35. Sokolov M.V. and Neumann R.D. *Radiation-induced bystander effects in cultured human stem cells.* PLoS ONE 2010, 5(12):e14195.

Recomendaciones para controles microbiológicos ambientales y de agua en un animalario

Grupo de Trabajo de la SECAL

S. Grané, P-J. Cardona, C. Eguiluz, J. Bravo y L. Parra (Coordinador)

INTRODUCCIÓN

La información sobre la evaluación microbiológica ambiental en animalarios se centra en la detección de bacterias y hongos ambientales con técnicas microbiológicas clásicas. Básicamente, el análisis se realiza en el agua, aire, suelos y techos (Bozik *et al.*, 1995; Kowalsy *et al.*, 2000, 2002; Edstrom and Curran, 2003; Parker *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2005). Debido a esto, tanto los protocolos utilizados como los límites de tolerabilidad se han inspirado en normativas y guías para el control de quirófanos y salas blancas (NTP 203; NTP 335; Monge, 2001; Norma UNE 100-713-2005; Caballero, 2007).

En el control ambiental destaca la alta importancia de los sistemas de climatización y su validación en caso de incidencias (Monge, 2001; Kowalski *et al.*, 2002; Caballero, 2007). Por lo general, se monitorizan los mesófilos totales, expresados en ufc/m³ (unidades formadoras de colonias por metro cúbico), sin búsqueda de patogenicidad de los mismos. En el caso de ambientes hospitalarios también se monitorizan hongos oportunistas (*Aspergillus spp*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Scedosporium*) y saprófitos. Los métodos más utilizados son la impactación y la sedimentación en placas de Petri (Norma UNE 100-713-2005; Norma UNE 100-012-2005; NTP 203; NTP 299; NTP 335; NTP 609; Baskerville and Seamer, 1982; Schulster and Chinn, 2003).

Es importante mencionar las nuevas orientaciones del control microbiológico ambiental en animalarios. A esto han contribuido dos hechos: por un lado, el auge y perfeccionamiento de las técnicas de diagnóstico microbiológico por PCR que permiten detectar en el ambiente la presencia de agentes infecciosos patógenos para animales de laboratorio; y por el otro, el uso cada vez más extendido del alojamiento de los animales en estanterías con jaulas ventiladas individualmente (Compton *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 2013).

El control de superficies se considera un método eficaz para la validación de métodos de limpieza y desinfección. Las superficies planas se monitorizan con placas de contacto. Para superficies no planas o de difícil acceso se utiliza el muestreo con hisopo, aunque es muy cuestionado. También se puede utilizar el test de proteína residual de superficies - ATP (Parker *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2005; Brielmeier *et al.*, 2006).

En relación con el control de aguas se considera que los valores de potabilidad del agua para humano (RD 140/2003) son suficientes para el consumo de animales inmunocompetentes, ya que por lo general su consumo no produce ninguna alteración en este tipo de animales. Para animales inmunodeprimidos, y debido a su mayor susceptibilidad, estos valores deberán ser más exigentes (Bozik *et al.*, 1995).

Antecedentes

SECAL promovió la realización de una encuesta entre sus socios para conocer la situación actual a nivel nacional con relación a los controles ambientales realizados en los diferentes centros. Las preguntas de dicha encuesta se muestran en la siguiente tabla:

Institución
1. Tipo de animalario
2. ¿Realiza controles microbiológicos?
3. La recogida, análisis y resultados
4. En caso afirmativo
a) Tipos de muestras
b) Método de muestreo
c) Puntos de muestreo
d) Frecuencia
e) Parámetros estudiados
f) Límites aceptados
g) Legislación
h) Actuación en caso valores fuera de límites

Imagen suministrada por la autoría

Se recibieron 22 encuestas de diferentes centros. Un 74% realiza controles microbiológicos. De ellos, el 61% realiza control de superficies, el 52% control ambiental y el 57% control del agua (ver Figura 1). Únicamente el 30% realiza todos los controles.

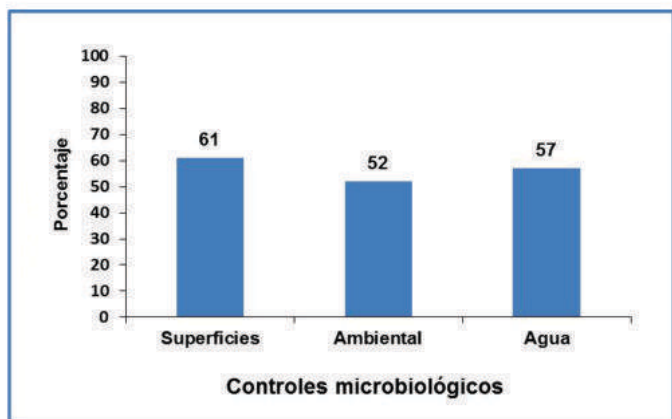


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Tipos de controles microbiológicos que realizan los diferentes centros encuestados.

En relación al control ambiental, la toma de muestras se realiza con los equipos en funcionamiento en el 91% de los animalarios. La impactación se utiliza un 70%, la sedimentación un 20% y las dos técnicas un 10% (ver Figura 2). La principal zona de muestreo son las salas (85%) frente a la salida de aire (14%; ver Figura 3). Se analizan aerobios mesófilos y hongos filamentosos en el 100% y 78% de los casos, respectivamente (ver Figura 4). En casi la mitad, 45%, la frecuencia de muestreo es trimestral.

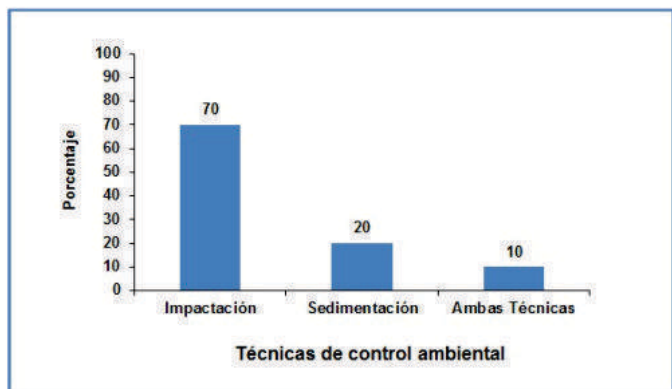


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Técnicas de control ambiental utilizadas en los diferentes centros encuestados.

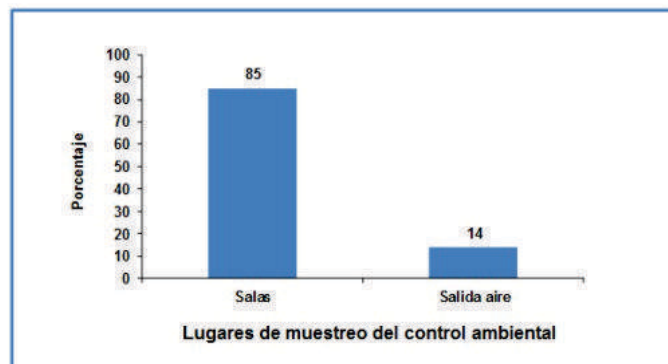


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Lugares de muestreo del control ambiental que realizan los diferentes centros encuestados.

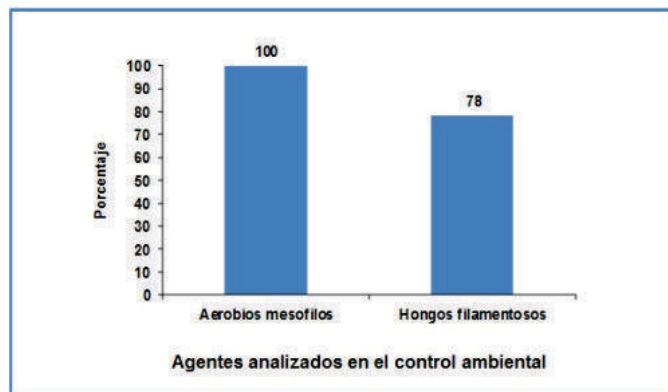


Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Agentes analizados en el control ambiental que realizan los diferentes centros encuestados.

Para el control de superficies, el 100% utiliza placas Rodac y un 21% utiliza también hisopos o escobillones (ver Figura 5). Ninguno utiliza sólo escobillones. La mayoría de los controles incluyen paredes, pero en el 61% de los centros, se incluyen al menos dos localizaciones distintas. Las jaulas se muestrean en el 50% de los casos, las paredes en el 78% y las cabinas en el 50% (ver Figura 6). Tanto los aerobios mesófilos como los hongos filamentosos se analizan en el 85% de los casos, y con una frecuencia trimestral en el 43% de los animalarios (ver Figura 7).

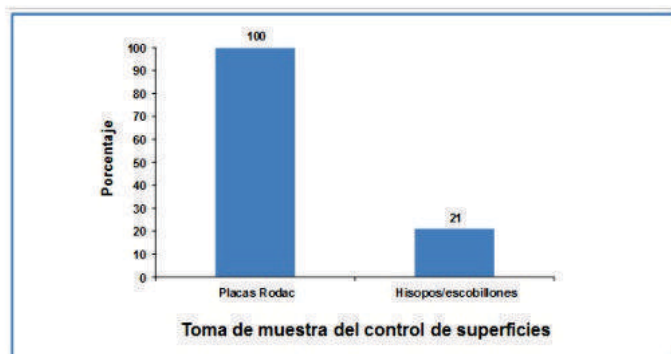


Imagen suministrada por la autoría

Figura 5.- Toma de muestra del control de superficies que realizan los diferentes centros encuestados.

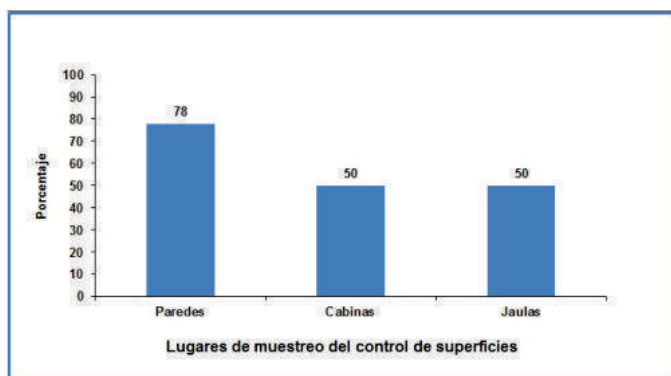


Imagen suministrada por la autoría

Figura 6.- Lugares de muestreo del control de superficies que realizan los diferentes centros encuestados.

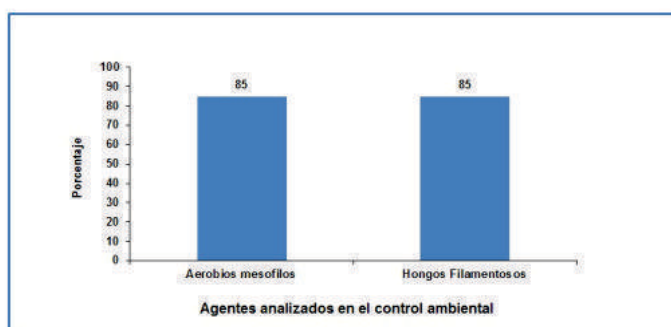


Imagen suministrada por la autoría

Figura 7.- Agentes analizados en el control de superficies que realizan los diferentes centros encuestados.

Con respecto al análisis del agua, todos los encuestados basan sus perfiles y criterios en el Real Decreto 140/2003 de aguas de consumo o hacen un control de esterilidad tras el autoclavado.

Importancia de los controles

Hoy en día, en la práctica de la experimentación animal, nadie aceptaría un experimento en el que los animales no tengan un estatus microbiológico establecido. Esta premisa no está tan clara en cuanto al control del ambiente en el que estos animales se establecen. Llama mucho la atención conceptos como animalario con barrera, de alta seguridad o convencional (CNV), sin saber exactamente qué condiciones microbiológicas cumplen.

Actualmente, la inversión en animales SPF o en animalarios con costosas medidas de barrera está en el orden del día. Sin embargo, no hay un trabajo estructurado en intentar controlar la eficacia de estas medidas para mantener un nivel microbiológico ambiental adecuado, o incluso para establecer qué tipo de nivel microbiológico ambiental sería necesario según el tipo de instalación, porqué, y qué tipo de medidas se tienen que tomar para mantener estas calidades.

¿Valoramos la utilidad de los desinfectantes de superficie?, ¿sabemos si creamos microorganismos resistentes? ¿Cómo controlamos el correcto seguimiento de la higiene del personal que entra en nuestras instalaciones? ¿Monitorizamos la utilidad y eficacia de los filtros HEPA en las unidades SPF o donde las tengamos?

OBJETIVO

Recoger en un documento las recomendaciones sobre cómo tomar las muestras, con qué frecuencia y los límites aceptables en función del tipo de instalación para control microbiológico de ambientes, superficies y aguas en animalarios. Se incluirán las actuaciones a seguir en caso de valores fuera de límites aceptables.

Por lo tanto, este documento unificaría los diferentes criterios que actualmente se utilizan, con el consiguiente beneficio tanto para el personal del animalario como para la calidad de los estudios con animales, protegiendo su bienestar, y posiblemente en algunos casos, un ahorro económico (por la frecuencia a realizarlos).

Al mismo tiempo, y en función de los resultados históricos que obtenga cada centro que aplique las recomendaciones aquí descritas, se considera que los protocolos de limpieza, sistema de climatización y pautas de acceso del personal a las diferentes áreas de un animalario son correctos.

GESTIÓN DE MUESTRAS

Superficies

Es recomendable el uso de placas Rodac (*Replicate Organisms Direct Agar Contact*) con el medio de cultivo seleccionado previamente en relación al objeto de estudio, siendo los laminocultivos una alternativa válida que permite la combinación de dos cultivos sobre una superficie conocida.

Como método complementario o para zonas de especial interés pero difícil acceso, se podrán usar hisopos.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 8.- A) Placa Rodac. B) Placa de laminocultivo de 10 cm². C) Hisopos estériles con medio de transporte.

A) Placas Rodac de contacto

Se cogerá la placa retirando la tapa y se presionará ligeramente contra la superficie, comprobando que la superficie del medio de cultivo haga contacto uniformemente con la superficie a tomar la muestra, sin rebasar la misma.

1. La placa deberá permanecer abierta el tiempo imprescindible y se vigilará de no tocar el interior de la misma con los dedos (es aconsejable utilizar siempre guantes estériles).
2. Una vez tomada la muestra, depositarla, por ejemplo, en un carro de transporte boca abajo.

B) Hisopos o escobillones con medio de transporte (medio Stuart, Amies u otros similares)

Se abre el hisopo y se frota en la superficie (si se puede, definida previamente con una plantilla del tamaño de una placa Rodac). Para obtener mayor recuperación, puede sumergirse previamente en suero fisiológico estéril (agua de peptona estéril o similar). Se introduce en el tubo con medio de transporte, se rotula y se envía al laboratorio para su procesamiento.

Muestras aéreas

Existen varias técnicas de muestreo ambiental, aunque la aspiración o impactación es la técnica más usada por su versatilidad y reproductibilidad. Otra técnica muy utilizada es la sedimentación ya que es más sencilla y permite la recogida de muestras de forma pasiva.

A) Muestreo automático

Existen varios equipos basados en el método de impactación (Recolector de Andersen, Recolector RCS, Muestreador SAS y otros similares, ver Figura 9). Estos equipos realizan la aspiración automática de un volumen de aire conocido que hacen impactar sobre placas o tiras con el medio de cultivo específico para los microorganismos a investigar.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 9.- A) Recolector RCS (Reuter centrifugal system). B) Muestreador SAS (Surface air system).

Es recomendable realizar la desinfección del cabezal extraíble del equipo de aspiración. Generalmente este cabezal es autoclavable y se puede desinfectar con alcohol entre cada toma de muestra.

1. Alojarse en el interior del muestreador de aire la placa o tiras con el medio de cultivo. Normalmente, estos equipos disponen de grapas para sujetar la placa, pudiendo graduarse el diámetro de la placa a colocar mediante un tornillo en una de las grapas.
2. Oprimir el pulsador para su puesta en marcha. Estos equipos tienen la posibilidad de poder graduar las fracciones de tiempo que puede permanecer en marcha (tomando la muestra de aire).
3. La altura del muestreador debe ser superior a la cabeza del técnico que realizará la toma de muestra.

4. La puerta de la zona donde se realiza debe permanecer cerrada durante el proceso.
5. Tomar la muestra en difusor o rejilla de impulsión del aire acondicionado y/o en el centro de la habitación para valorar el sistema de aire y el estado de higiene de la sala.
6. Terminada la aspiración, se coge la placa tapándola nuevamente. Es importante que la placa permanezca descubierta el menor tiempo posible y se vigile su manipulación para no tocar el interior de la misma.

B) Sedimentación en placas de Petri (toma de muestras pasiva)

Este sistema permite el muestreo de forma pasiva en pequeños espacios (una jaula ventilada) y en procesos en los que queramos monitorizar el desarrollo de una actividad (en una cabina de cambio o seguridad biológica).

Utilizar placas de Petri de 90mm con el medio de cultivo adecuado a los microorganismos a investigar. Abrir las placas de Petri y colocar sobre una superficie que permita mantenerla en estas condiciones durante 4 horas y a 1 metro de altura.

Deberá de tomarse siempre en el mismo sitio de la sala, para poder comparar los resultados de distintos días.

Muestras de agua

La metodología de recogida debe adaptarse al tipo de agua a controlar. En cualquier caso, la toma de muestra de agua debe realizarse en recipientes estériles y siempre utilizando guantes estériles para evitar la contaminación.

Para el análisis microbiológico, si es posible esterilizar el grifo o punto terminal de la instalación en el caso de instalaciones de bebida automatizada con alcohol y dejar secar. En algunos casos es posible flamear el alcohol.

Abrir el grifo y dejar correr el agua durante unos 2 o 3 minutos, para evitar recoger agua estancada en la cañería (en función de la instalación).

Con el grifo abierto, se desenroscará el tapón de la botella, se colocará la botella debajo del grifo tomando como mínimo unos 500 ml, y a continuación se cerrará la botella. Al igual que con las

placas, es importante que permanezca abierta el menor tiempo posible.

Para el control de agua autoclavada se deberá recoger un mínimo de 500 ml bajo cabina en un recipiente estéril. Se deberá recoger la muestra del agua en su plazo más largo de conservación antes de ser utilizada; complementariamente, se podrá muestrear en diferentes pasos del proceso para controlar la eficacia del mismo.

Para las instalaciones de bebida automatizada, se podrán realizar de igual forma muestreos selectivos para el control de los diferentes sistemas o equipos que puedan conformar la instalación.

En cualquier caso, en función del objetivo buscado se deberá escoger la muestra que se desee, considerándose el peor de los escenarios posibles el agua embotellada al retirarla de los animales.

Enviar para su análisis. Conservar en refrigeración un máximo de 24 horas.

Para el análisis microbiológico del agua es recomendable neutralizar el desinfectante (20 mg. de tiosulfato de sodio por litro de agua).

Métodos complementarios

Existen otras técnicas de control microbiológico de ambientes y superficies que se pueden usar como métodos complementarios a los ya descritos, si bien su utilidad esta limitada a aplicaciones concretas:

A) Test de proteína residual (ATP)

Con la aplicación de las técnicas de bioluminiscencia, para la detección de Adenosin Trifosfato (ATP) presente en todos los seres vivos sobre las superficies, se puede validar y verificar la eficacia de los procesos de limpieza y eliminación de materia orgánica. Los procesos de desinfección quedan fuera del control de este test.

B) Detección de patógenos por PCR

Permite la monitorización cualitativa de los patógenos

ambientales o de superficie mediante el muestreo con hisopos sobre los conductos o filtros de extracción. Esta técnica puede resultar muy útil como complemento de la monitorización sanitaria de los animales, aunque es demasiado pronto para valorar debido a su reciente desarrollo.

Consideraciones importantes

Se debe disponer de una hoja de trabajo en la que estén incluidos todos los posibles sitios susceptibles de muestreos. Se tenderá a escoger los puntos de muestreo en función del riesgo de contaminación, normalmente los puntos identificados con más riesgo.

Debe de tenerse en cuenta que para hacer un muestreo significativo sobre un área se recomienda coger al menos 5 placas por superficie. Es decir, si por ejemplo queremos verificar el suelo de una sala de alojamiento de animales, deberemos de tomar cinco muestras del suelo de diferentes lugares aleatoriamente.

Identificar las placas, numerando en un margen de la base con un número en pequeño (nunca en la tapa) conforme a la numeración existente en la hoja de trabajo.

Para los casos de las muestras ambientales (aires y/o sedimentación) como las de contacto, deberá haber transcurrido al menos 12 horas desde la última actuación de saneamiento del área a muestrear, con objeto de evitar los efectos de los detergentes y desinfectantes residuales.

En el caso del agua, identificar el recipiente con la muestra, indicar la fecha de la toma de muestra y si corresponden a diferentes sitios, indicar los mismos.

Identificar en la hoja de trabajo los números de muestras que se toman, indicando la fecha y firma del técnico que la realiza.

CONCLUSIONES / RECOMENDACIONES

De todos los datos obtenidos mediante revisión bibliográfica y de las encuestas en los centros en España se han constatado las diferencias habidas en criterios de valoración, en las frecuencias de monitorización y control ambiental, así como en los métodos de toma de muestras microbiológicas de ambientes, superficies y aguas en animalarios.

Por todo ello, los miembros de este Grupo de Trabajo hacen una propuesta en la que se establecen unas recomendaciones específicas para centros de alojamiento de animales de experimentación, teniendo en cuenta lo mencionado en el párrafo anterior.

Ambientes y superficies

Puntos de control

Para realizar una correcta interpretación de la calidad microbiológica del ambiente de un centro de alojamiento de animales de experimentación, se deberán chequear las superficies y ambientes que están en contacto con los animales.

En un animalario CNV, se debería chequear preferentemente el suelo y el aire de la sala.

En un animalario SPF, daremos prioridad al chequeo del aire de entrada, suelo, paredes y techos. En este tipo de instalaciones, los racks ventilados (si se dispone de ellos) pueden ser otro punto interesante de control ambiental utilizando un hisopo.

En un animalario NCB3 (Nivel de Contención Biológica 3), deberemos añadir además de los indicados en el SPF, la superficie donde trabajemos con los animales (por ej., cabinas de seguridad), así como por criterios de contención (por los patógenos con que se estén trabajando) el área de salida del animalario (vestuario).

Siempre se deberán seleccionar muestras que representen la totalidad de la instalación, pero priorizando los focos de mayor contacto de los animales.

Es importante que se realice una selección de los puntos críticos y que éstos queden reflejados y referenciados para realizar el chequeo en los mismos puntos, en las mismas condiciones de funcionamiento de la instalación, el mismo día de la semana, por la misma persona y cualquier otra variable que se pueda prever.

Recomendamos realizar el muestreo en funcionamiento normal de la instalación.

Independientemente del tipo de animalario, debemos también controlar todo el entorno inmediato a los animales; es

decir, cubetas, rejas, biberones y cualquiera con los que los animales puedan tener un contacto directo.

En estos casos, las muestras se tomarán después del proceso de autoclavado, desinfección o saneamiento del material, y previo al uso por parte de los animales.

Parámetros estudiados

Por consenso y en relación a otros sectores con mayor tradición en la monitorización microbiológica, los parámetros principales a monitorizar para ambientes y superficies serán los aerobios mesófilos y los hongos filamentosos.

Periodicidad

En función del objetivo, recomendamos la siguiente periodicidad de control ambiental:

Antes de la apertura de una nueva instalación de alojamiento de animales se recomienda realizar una validación del sistema de climatización y de los procesos de limpieza y desinfección. Este proceso debe incluir un control de ambientes y superficies tras los procesos de limpieza y desinfección inicial. El personal deberá de acceder a las diferentes salas como si ya hubiera animales alojados. Con ello, también se comprobará la eficacia sobre los accesos en el animalario.

Posteriormente, los controles ambientales se realizarán mensualmente durante al menos 6 meses. Si se obtienen resultados inferiores a los límites recomendados, se considerará suficiente la frecuencia trimestral.

No obstante, deben tenerse en cuenta los factores de riesgo para establecer la periodicidad. En un mismo animalario podría haber distintas periodicidades dependiendo de los riesgos de las zonas, tipo de investigación que se lleva a cabo (uso de agentes infecciosos, etc.), especies utilizadas, número de personas accediendo al área, cambio de procedimientos de limpieza, introducción de nuevo personal u otros que pudieran afectar.

Valores recomendados en función del tipo de instalación

Límites recomendados de contaminación microbiana			
Animalario	Ambientes		Superficies
	ufc/m ³ de aire	Placas sedimentación (diámetro 90 mm) ufc/4 horas	Placas de contacto (diámetro 55 mm) ufc/placa
NCB3	≤10	≤5	≤5
SPF	≤10	≤5	≤5
CNV	≤100	≤50	≤50
Zonas anexas	≤200	≤100	≤100

Animalario	Elementos entorno inmediato	Placas de contacto Hisopos o escobillones
NCB3	Cubetas, rejas, separadores,	<1
SPF	biberones y cualquier otro en	<1
CNV	contacto directo con los animales	≤10*

(*) Aplicable cuando es una desinfección; en caso de autoclavado, aplica como si fuera un NCB3 o SPF. Imagen suministrada por la autoría

Límites recomendados de hongos filamentosos			
Animalario	ufc/m ³ de aire	Ambientes	Superficies
		Placas sedimentación (diámetro 90 mm) ufc/4 horas	Placas de contacto (diámetro 55 mm) ufc/placa
NCB3	<1	<1	<1
SPF	<1	<1	<1
CNV	<1	<1	<1
Zonas anexas	≤5	≤2	≤1

Imagen suministrada por la autoría

Acción correctora

Si se obtienen resultados superiores a los límites recomendados, se establecerán acciones correctoras y se revisarán los procedimientos de limpieza y desinfección, aplicaciones, actuaciones específicas del personal, sistema de climatización (filtros) y cualquier otro susceptible de revisión. Se deberían repetir los controles después de llevar a cabo acciones correctoras, para verificar su eficacia.

Dentro de las posibles acciones correctoras, debe considerarse - en caso de valores superiores a los normales en los suelos, paredes o techos - la idoneidad del desinfectante utilizado, y si tenemos contemplado en nuestras rutinas de limpieza y desinfección la alternancia de desinfectantes.

En los casos en que tengamos pautas de higiene/desinfección ya verificadas como correctas, es posible que por algún motivo puntual se obtengan límites superiores a los recomendados. En estas ocasiones podemos realizar una

nebulización (en ausencia de personal y animales) y repetir los controles, para verificar su eficacia.

En el caso del aire, verificar la desinfección justo donde está la impulsión de entrada a la sala y posteriormente, si continúan los problemas, verificar el estado de los filtros así como la estanqueidad de los mismos.

También se requiere un control sobre el personal que accede al animalario y en qué condiciones. Independientemente del tipo de animalario (CNV, SPF o NCB3), debería de accederse con calzado propio de la instalación, protegido con cubrezapatos, ropa específica y siempre guantes para la manipulación de los animales o los diferentes equipos.

Después de una acción correctora, siempre se verificará que haya sido efectiva y se hayan alcanzado los valores recomendables.

Agua

El origen del agua de bebida de los animales es muy distinto (agua de red, agua mineral embotellada, agua autoclavada, agua de osmosis inversa con paso por sistema de luz ultravioleta, u otros).

Si bien los sistemas de desinfección o esterilización utilizados pueden ser distintos, deben asegurar una calidad microbiológica aceptable para los animales.

Punto de control

El punto de control estará en función del sistema: automático, botella tipo biberón u otro.

Se tomará una muestra del punto de salida de agua durante su uso habitual. En el caso de biberón, tras el periodo más largo de almacenamiento en el centro.

Parámetros estudiados

En base a lo establecido en el Real Decreto 140/2003 que establece los criterios de calidad para aguas de consumo humano, se recomienda verificar los siguientes parámetros en el agua de bebida de los animales de experimentación: aerobios mesófilos a 22°C, aerobios mesófilos a 37°C, Coliformes totales,

Escherichia coli, *Enterococo*, *Clostridium perfringens* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Es de especial importancia el control del agua en animales inmunodeprimidos.

Periodicidad

En animales estabulados durante mucho tiempo, recomendamos una periodicidad de análisis semestral, en caso de animales inmunodeprimidos y para el resto de animales trimestral.

En cualquier caso, debería hacerse una analítica de agua como mínimo anualmente.

Valores recomendados

Límites recomendados en control de agua		
Parámetros	Unidades	Valor guía
Aerobios mesófilos a 22°C	ufc/ml	100
Aerobios mesófilos a 37°C	ufc/ml	<1
Coliformes totales	ufc/100 ml	<1
Escherichia coli	ufc/100 ml	<1
Enterococo	ufc/100 ml	<1
Clostridium perfringens	ufc/100 ml	<1
Pseudomonas aeruginosa	ufc/100 ml	<1

Imagen suministrada por la autoría

Acción correctora

Si los valores obtenidos superan los valores recomendados, deberán de tomarse acciones correctoras.

En el caso de agua de red, proceder a la desinfección del punto desde donde se toma el agua para el llenado de biberones. En algunos casos es posible, según la construcción del ramal de agua, proceder a una desinfección de la tubería.

Si hay una desviación de valores después de un autoclavado, verificar el proceso de esterilización del autoclave y el de conservación o almacenamiento del agua autoclavada (en cada autoclavado se debe incluir al menos un control, para comprobar que el ciclo de autoclavado haya sido correcto).

En el caso de circuitos de agua de osmosis inversa con luz ultravioleta incorporado, proceder a una limpieza del mismo (incluyendo los filtros). El tubo de luz ultravioleta debe de tener un contador de uso de horas en marcha, ya que éstos pierden eficacia aunque sigan funcionando (proceder al cambio según recomendación del fabricante).

Siempre después de una acción correctora se verificará que ésta haya sido efectiva y que se hayan alcanzado los valores recomendables.

BIBLIOGRAFÍA

- Baskerville M. and Seamer J.H. *Use of portable filter units to control the animalhouse environment*. Lab Anim 1982, 16:356-60.
- Bozik R.J., Nebiar F., Greenstein G., et al. *A comparative study of an automated diagnostic system with standard manual techniques for microbiological water analysis in an animal facility*. Contemp Top Lab Anim Sci 1995, 34(1):52-5.
- Brielmeier M., Mahabir E., Needham J.R., et al. *Microbiological monitoring of laboratory mice and biocontainment in individually ventilated cages: a field study*. Lab Anim-UK 2006, 40:247-60.
- Caballero E. *Evaluación microbiológica de la calidad ambiental en instituciones de salud*. 2007, <http://www.monografias.com/trabajos75/evaluacion-microbiologica-instituciones-salud/evaluacion-microbiologica-instituciones-salud.shtml>
- Compton S.R., Homberger F.R., Paturzo F.X., et al. *Efficacy of three microbiological monitoring methods in a ventilated cage rack*. Comp Med 2004, 54(4):382-392.
- Edstrom E.K. and Curran R. *Quality assurance of animal watering systems*. Lab Anim (NY) 2003, 32(5):32-5.
- *Environmental monitoring*. Charles River Laboratories Technical bulletin. 1.877.criver.1, http://www.criver.com/sitecollectiondocuments/rm_rm_r_environmental_monitoring.pdf
- Favero M.S., Puleo J.R., Marshall J.H., et al. *Comparative levels and types of microbial contamination detected in industrial clean rooms*. Appl Microbiol 1966, 14(4):539-51.
- *Guía práctica para el diseño y mantenimiento de la climatización en quirófanos*. Instituto nacional de la salud. Servicio de Documentación y Publicaciones. ISBN:84-351-0221-1. 1996.
- *Guía de normas de correcta fabricación de la Unión Europea. Medicamentos de uso humano y veterinario*. 2003, <http://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/home.htm>
- *Guidelines on environmental monitoring for aseptic dispensing facilities. A working group of the scottish quality assurance specialist interest group*. 2004, <http://documents.mx/documents/guidelines-on-environmental-monitoring-for-aseptic-dispensing-facilities.html>
- Hall L.B. and Hartnett M.J. *Measurement of the Bacterial Contamination on Surfaces in Hospitals*. Public Health Rep 1964, 79:1021-4.
- Jensen E.S., Allen K.P., Henderson K.S., et al. *PCR Testing of a Ventilated Caging System to Detect Murine Fur Mites*. J Am Assoc Lab Anim Sci 2013, 52(1):28-33.
- Kowalski W.J. and Bahnfleth P.E. *UVGI Design Basics for Air and Surface Disinfection. HPAC ENGINEERING (Heating/Piping/AirConditioning)*. January 2000.
- Kowalski W.J., Bahnfleth P.E., and Carey D.D. *Engineering Control of Airborne Disease Transmission in Animal Laboratories*. Contemp Top Lab Anim Sci 2002, 41(3):9-17.
- *Microbiological Monitoring Program in Conventional Laboratory Animal Facility*. Cornell Center for Animal Resources and Education. Cornell University
- Monge Jodra V. *Contaminación ambiental en zonas de riesgo hospitalario*. Asociación Española de Ingeniería Hospitalaria. 2001
- Napoli C., Marcotrigiano V., and Montagna M.T. *Air sampling procedures to evaluate microbial contamination: a comparison between active and passive methods in operating theatres*. BMC Public Health 2012, 12:594.
- Nicklas W., Baneux P., Boot R., et al. *Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units*. Lab Anim-UK 2002, 36:20-42.
- Norma UNE 100-713-2005: *Instalaciones de acondicionamiento de aire en hospitales*.
- Norma UNE 100-012-2005: *Higienización de sistemas de climatización*.
- NTP 203: *Contaminantes biológicos: evaluación en ambientes laborales*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Centro Nacional de Condiciones de Trabajo. Madrid. 1988.
- NTP 299: *Método para el recuento de bacterias y hongos del aire*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Centro Nacional de Condiciones de Trabajo. Madrid. 1993.

- NTP 335: *Calidad del aire interior: evaluación de la presencia de polen y esporas fúngicas*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Centro Nacional de Condiciones de Trabajo. Madrid. 1994.
- NTP 609: *Agentes biológicos: equipos de muestreo (I)*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Centro Nacional de Condiciones de Trabajo. Madrid. 2001.
- Ottria G., Dalleria M., Aresu O., et al. *Environmental monitoring programme in the cell therapy facility of a research centre: preliminary investigation*. J Prev Med Hyg 2010, 51(4):133-8.
- Parker A., Wilfred A.G., and Hidell T.B. *Environmental Monitoring: The Key to Effective Sanitation*. Lab Anim 2003, 32(5):26-9.
- Pasquarella C., Pitzurra O., and Savino A. *The index of microbial air contamination*. J Hosp Infect 2000, 46:241-56.
- Raynor T.H., White E.L., Cheplen J.M., et al. *An evaluation of a water purification system for use in animal facilities*. Lab Anim 1984, 18:45-51.
- Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.
- Real Decreto 1074/2002, de 18 de octubre, por el que se regula el proceso de elaboración, circulación y comercio de aguas de bebida envasadas (vigente hasta el 21 de enero de 2011).
- Real Decreto 1798/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula la explotación y comercialización de aguas minerales naturales y aguas de manantial envasadas para consumo humano.
- Real Decreto 1799/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula el proceso de elaboración y comercialización de aguas preparadas envasadas para el consumo humano.
- Reglamento (CE) Nº 183/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de enero de 2005 por el que se fijan requisitos en materia de higiene de los piensos.
- Sehulster L. and Chinn R.Y.W. *Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities*. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), 2003.
- Williams C.D., Greenstein G., Kopec A.S., et al. *Microbiological Evaluation of a Newly Constructed Animal Facility*. Contemp Top Lab Anim Sci 2005, 44(2):7-11.
- http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/eic_in_hcf_03.pdf

**ANÚNCIATE
EN ANIMALES
DE LABORATORIO
LA REVISTA DE
LA SECAL**

publicidad.revista@secal.es



**MÁS DE 400 SOCIOS
RELACIONADOS CON EL SECTOR
DE LOS ANIMALARIOS.**

Lechos Premium para
Animales de Laboratorio



LIGNOCEL®



Eficacia, fiabilidad y
trazabilidad aseguradas.



Calidad superior certificada acorde
ISO, HACCP, PEFC y EnMS

Travesera de Gracia 56, 2º2ª
08006 Barcelona
Tel. 933 262 888
e-mail: info@jrsiberica.com

RETENMAIER IBÉRICA
S.L. Y CIA. S. COM.



Fibras diseñadas
por la naturaleza
Una compañía del grupo JRS

Evaluación de diferentes fuentes de calor para dilatar las venas de la cola en muestreos de sangre en ratón

M. Jiménez¹, V. Solís¹, C. Muñoz¹, J. Sparrowe¹, J. Sánchez¹, I. Camino², R. García¹ y A. Martínez¹

¹Laboratory Animal Science y ²Preliminary Safety. Diseases of the Developing World

Tres Cantos Medicines Development Campus. Tres Cantos, Madrid.

INTRODUCCIÓN

En las etapas tempranas del proceso de descubrimiento de nuevos medicamentos es necesario evaluar las propiedades biológicas de un gran número de compuestos, lo que requiere, entre otros, estudios de farmacocinética (PK). La especie de elección para estos estudios suele ser el ratón, tanto por razones prácticas como científicas. Con el fin de caracterizar el perfil farmacocinético del compuesto de estudio, se determina la concentración del mismo a lo largo del tiempo. Para ello, tras la administración del compuesto se obtienen muestras de sangre a diferentes tiempos, a partir de las venas laterales de la cola del ratón. Para facilitar la toma de muestras repetidas es necesario dilatar los vasos. Esto se puede conseguir mediante el uso de calor.

El objetivo de este estudio era evaluar diferentes fuentes de calor disponibles para favorecer la dilatación de las venas de los ratones para muestreos seriados de PK, y utilizar el sistema que obtuviera mejores resultados para nuestros estudios. La evaluación se realizó con respecto a: 1) la efectividad del método de calentamiento y 2) el bienestar animal.

MÉTODOS

Animales

Se utilizaron ratones C57BL/6 hembra de 18-20 g a la llegada (Harlan Laboratories Models). Se alojaron en jaulas de tipo III, con viruta de médula de maíz (Souralit) y un iglú rojo (Datesand) como enriquecimiento ambiental. Se les suministró comida (Harlan Tecklad 2914) y agua (ultrafiltrada) *ad libitum*. El ciclo de luz oscuridad fue de 12:12 con las luces encendidas a las 8 h.

Todos los experimentos fueron aprobados por el Comité ético del centro y cumplen con el RD 53/2013 y la Política corporativa "Cuidado y Trato Ético a los animales por GSK".

Diseño del estudio

A tiempo cero, se administró a los ratones suero salino por vía oral (10 ml/kg) para simular la administración de compuesto. Luego se muestrearon 20 µl de sangre de las venas de la cola a los 20, 40 y 60 minutos, tras calentarlas durante 10 minutos antes de cada muestreo (ver Tabla 1 y Figuras 1 y 2). La temperatura del termostato necesaria para cada uno de los sistemas se evaluó previamente para asegurar que la temperatura real para los animales fuera similar en los tres. En cada muestreo, el operador evaluó de forma ciega la facilidad del muestreo (ver Tabla 2, punto 1). Tras el último muestreo, se pesó a los ratones y se procedió a su eutanasia con CO₂ para tomar una muestra final de sangre total por punción cardiaca. La sangre se analizó para hemograma, bioquímica y corticosterona. Para controlar el efecto del ritmo circadiano y del ciclo estral en los niveles de corticosterona, todas las muestras se tomaron entre las 11 y las 13 h (Dalm *et al.*, 2005; Otsuka *et al.*, 2012) y se hicieron frotis vaginales (Girard and Garland, 2002).

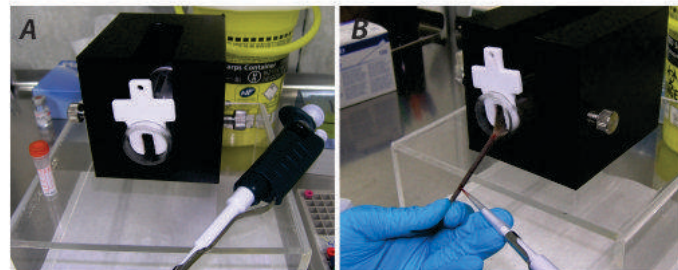
Grupo	n	Fuente de calor
Armario Calefactor (AC)	9	Armario calefactor a 35°C (Scanbur-BK).
Mini-Thermacage (MT)	9	Armario calefactor de pequeño tamaño a 33°C (Mini-thermacage, Datesand).
Lámpara Infrarrojos (LI)	9	Lámpara de infrarrojos de fisioterapia (bombilla de 250 W), situada a 60 cm de distancia desde el punto más bajo de la bombilla hasta la superficie de la viruta.
Control Basal (CB)	6	Sin manipular.
Control Procedimiento (CP)	6	Se dosificó suero salino y se manipuló, pero no se calentó.

Tabla 1.- Grupos experimentales.



Imágenes suministrada por la autoría

Figura 1.- Fuentes de calor para dilatar las venas de la cola del ratón. **A)** Mini-thermacage: la fuente de calor se sitúa sobre la cubeta y hace entrar aire caliente a la temperatura fijada por el operador; los animales se colocan en compartimentos por grupos experimentales. **B)** Lámpara de infrarrojos. **C)** Armario calefactor.



Imágenes suministrada por la autoría

Figura 2.- **A)** Cepo utilizado para inmovilizar al ratón. **B)** Técnica para la toma de muestras.

Estadística

En las gráficas y tablas se muestran medias y desviaciones estándar; los grupos con letras diferentes muestran diferencias significativas entre ellos.

El valor significativo para p se considera <0.05, excepto para los valores bioquímicos y del hemograma que, al ser comparaciones múltiples, se considera significativo $p < 0.0102$ y $p < 0.003852$ respectivamente, de acuerdo a la Guía Estadística de GraphPad (Motulski, 2003).

Resultados

Evaluación del operador y del tiempo de muestreo (ver Figura 3)

<p>1. Evaluación operador / tiempo de muestreo</p> <p>a) Número de pinchazos necesarios para obtener una muestra de sangre de 20 µl.</p> <p>b) Esfuerzo necesario para que salga todo el volumen de muestra: 0, la gota sale sola; 1, es necesario masajear la cola una vez; 2, es necesario masajear la cola varias veces para obtener la muestra; 3, no sangra.</p> <p>c) Tiempo que se tarda en obtener la muestra desde el primer pinchazo hasta que se obtiene el volumen completo.</p>
<p>2. Bioquímica</p> <p>Glucosa (GLU), creatin-kinasa (CK), aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y lactato deshidrogenasa (LDH) como indicadores de estrés agudo (Sánchez <i>et al.</i> 2002).</p>
<p>3. Hemograma</p> <p>Leucocitos (Leu), eritrocitos (Ery), hemoglobina (Hb), hematocrito (Hct), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración de hemoglobina celular media (CHCM), amplitud de distribución eritrocitaria (ADE), plaquetas (Plt), volumen plaquetario medio (VPM), neutrófilos (Ne), linfocitos (Li), monocitos (Mo), eosinófilos (Eo) y basófilos (Bas).</p>
<p>4. Corticosterona</p>
<p>5. Peso corporal</p> <p>Diferencia entre el peso antes de la administración y tras el último muestreo.</p>

Tabla 2.- Parámetros evaluados en el estudio.

El **número de punciones** de la aguja necesarias para obtener la muestra fue menor para el grupo LI, aunque esta diferencia no fue significativa (two-way ANOVA; $p > 0.05$).

En el **esfuerzo necesario** para obtener la muestra influyeron significativamente el tiempo de muestreo, la fuente de calor y los ratones individuales (two-way ANOVA; $p = 0.0133$, $p = 0.0327$ y $p = 0.0024$, respectivamente). El esfuerzo necesario para obtener la muestra fue significativamente menor en el grupo LI en comparación con el grupo AC (two-way ANOVA, Tukey's multiple comparisons test; $p < 0.05$).

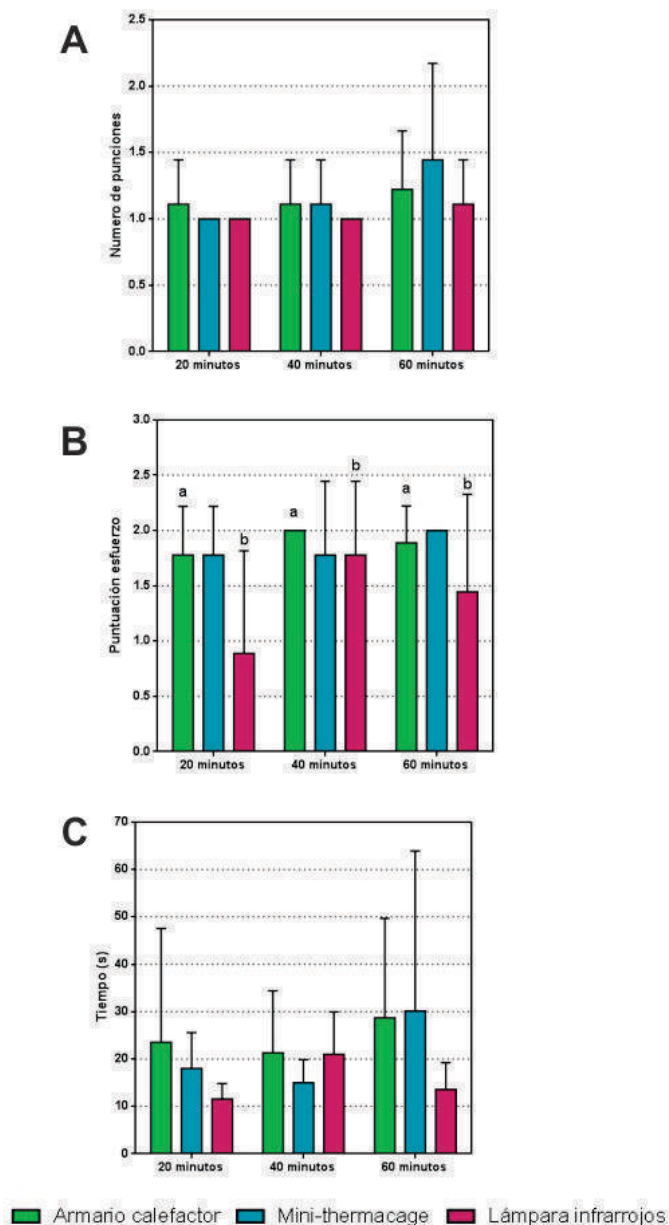
El **tiempo necesario** para obtener la muestra fue menor para el grupo LI (15.37 segundos frente a 24.52 y 21.04 segundos para el grupo AC y el grupo MT, respectivamente), aunque esta diferencia no fue significativa (two-way ANOVA; $p > 0.05$).

El **MT** fue el más cómodo de usar, ya que los animales se pudieron separar en grupos en cada uno de los compartimentos, de manera que el acceso a los mismos fue más sencillo y rápido.

En el **AC**, los animales se tuvieron que mantener en sus jaulas, por lo que el acceso a los animales fue más laborioso.

En la **LI**, animales de diferentes grupos se calentaron en una misma cubeta sin tapa. Para evitar problemas de sobrecalentamiento de los animales, se recomienda que la lámpara

lleve un temporizador, se mantenga a la distancia establecida de la jaula y que siempre haya alguien en la habitación mientras esté encendida.



Imágenes suministrada por la autoría

Figura 3.- Valoración del muestreo por parte del operador. **A)** Número de punciones de la aguja necesarias para obtener la muestra. **B)** Puntuación del esfuerzo necesario para obtener la muestra; los grupos con letras diferentes presentan diferencias significativas en la puntuación. **C)** Tiempo necesario para obtener la muestra.

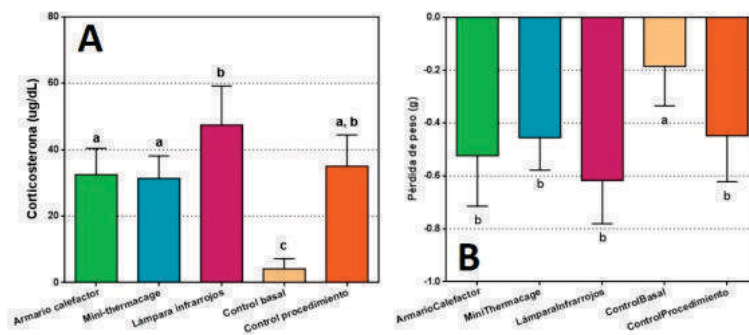
Efecto en los animales (ver Figura 4 y Tabla 3)

Los **niveles de corticosterona** fueron significativamente diferentes entre los grupos (ANOVA, Tukey's Multiple Comparisons Test; $p < 0.0001$). El grupo LI es el que mostró niveles más altos de corticosterona, siendo significativamente más elevados que en los grupos AC y MT. El ciclo estral no afectó a los niveles de corticosterona, que fueron similares a los obtenidos por Benedetti *et al.* (2011) tras la manipulación y administración de diferentes sustancias.

Todos los grupos perdieron **peso**, entre 1.1 y 3.05% del peso inicial, y de forma significativa con respecto al grupo CB (ANOVA, Dunnet's Multiple Comparisons Test; $p < 0.0002$).

En los **parámetros bioquímicos** se observó una elevación de los niveles de CK, LDH, AST, ALT y GLU para todos los grupos muestreados en comparación con el grupo CB. Esta elevación fue únicamente significativa para los niveles de glucosa en los animales del grupo CP en comparación con los grupos AC y CB (Kruskall-Wallis; $p < 0.01$).

En los **parámetros del hemograma** se encontraron diferencias significativas entre los grupos en los valores de Leu, Hb, Hct y HCM (Kruskall-Wallis; $p < 0.002$). Estas diferencias fueron causadas probablemente al efecto tanto del calentamiento como del muestreo, ya que en algunos casos los grupos CB y CP no mostraron diferencias y en otros sí.



Imágenes suministrada por la autoría

Figura 4.- **A)** Niveles de corticosterona (µg/dl) tras el último muestreo. **B)** Pérdida de peso (g) de los animales por grupo.

BIOQUIMICA	CK (IU/L)	LD-P (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	GLU (mg/dL)
Armario	911,6	1539,0	230,4	77,3	225,3
Calefactor	(359,1)	(579,7)	(102,2)	(27,1)	(20,3) ^a
Mini thermacage	942,2	1593,6	258,4	101,9	241,7
	(382,8)	(569,4)	(93,0)	(81,4)	(24,0)
Lámpara infrarrojos	864,6	1353,6	244,9	82,9	235,0
	(466,7)	(651,1)	(103,7)	(37,1)	(24,6) ^a
Control basal	630,5	900,9	200,0	70,2	222,0
	(491,1)	(292,6)	(124,9)	(43,9)	(17,7) ^a
Control Procedimiento	1084,2	1617,2	225,3	76,3	276,0
	(634,1)	(458,0)	(71,3)	(21,8)	(31,5) ^a

HEMATOLOGIA	Leu (10 ⁹ /ul)	Ery (10 ¹² /ul)	Hb (g/dl)	Hct (%)	VCM (fl)	HCM (pg)
Armario	6,59	9,14	15,18	46,57	51,11	16,64
Calefactor	(1,65)	(0,39)	(0,62) ^a	(1,83) ^a	(1,62) ^a	(0,48)
Mini thermacage	5,40	9,43	15,44	47,51	50,00	16,37
	(1,41)	(0,39)	(0,65) ^a	(2,12) ^a	(0,87)	(0,24)
Lámpara infrarrojos	5,92	9,46	15,42	47,50	50,22	16,31
	(1,32)	(0,31)	(0,53) ^a	(1,76) ^a	(0,44)	(0,18)
Control basal	7,63	9,70	17,01	52,09	48,00	17,65
	(1,11) ^a	(0,73)	(0,59) ^b	(1,41) ^b	(1,15) ^b	(1,82)
Control Procedimiento	3,97	9,54	15,63	48,20	50,67	16,38
	(1,26) ^b	(0,28)	(0,50)	(1,54)	(1,63) ^a	(0,44)

HEMATOLOGIA	CHCM (g/dl)	ADE (%)	PLT (10 ⁹ /ul)	VPM (fl)	NE (%)	LI (%)
Armario	32,61	13,70	702,11	5,91	2,77	95,62
Calefactor	(0,45)	(0,75)	(159,57)	(0,58)	(0,97)	(1,93)
Mini thermacage	32,49	12,38	737,89	5,79	3,93	93,60
	(0,17)	(4,08)	(136,25)	(0,38)	(2,25)	(3,72)
Lámpara infrarrojos	32,52	14,06	759,56	5,78	4,60	92,58
	(0,26)	(1,57)	(137,07)	(0,14)	(3,43)	(5,74)
Control basal	32,66	14,76	822,00	5,77	4,87	91,24
	(0,64)	(1,55)	(75,80)	(0,17)	(3,67)	(6,43)
Control Procedimiento	32,42	15,67	633,83	6,12	4,22	92,23
	(0,26)	(1,79)	(324,95)	(0,48)	(4,67)	(6,52)

HEMATOLOGIA	MO (%)	EO (%)	BAS (%)
Armario	1,52	0,09	0,00
Calefactor	(0,98)	(0,06)	(0,00)
Mini thermacage	2,34	0,12	0,00
	(1,46)	(0,12)	(0,00)
Lámpara infrarrojos	2,64	0,17	0,01
	(2,15)	(0,25)	(0,03)
Control basal	3,60	0,24	0,04
	(2,57)	(0,32)	(0,11)
Control Procedimiento	3,12	0,42	0,02
	(1,72)	(0,83)	(0,04)

Tabla 3. Valores del análisis bioquímico y del hemograma. Se muestra la media y (desviación estándar). Los grupos con letras diferentes muestran diferencias significativas entre ellos.

CONCLUSIONES

Se observa que el calentamiento y muestreo de los ratones en farmacocinéticas seriadas es un procedimiento moderadamente estresante, como muestra la pérdida de peso, la elevación de la corticosterona y la alteración de algunos parámetros bioquímicos y del hemograma. El calentamiento previo es necesario para obtener una muestra de suficiente calidad y volumen, y evitarlo no reduce los niveles de estrés en los animales, como se observa en el grupo Control Procedimiento.

La Lámpara de infrarrojos es la fuente de calor más efectiva, pero también la que produce una mayor elevación de la corticosterona. No se observan diferencias relevantes entre el Armario Calefactor y el Mini thermacage en relación con el bienestar animal.

Por tanto, se recomienda el uso del Armario Calefactor y el Mini thermacage, con preferencia por este último por su facilidad de uso. También se recomienda limitar el uso de la Lámpara de infrarrojos a los casos en los que, por las características concretas de los animales (p. ej., bajo peso) o del ensayo (p. ej., un fármaco vasoconstrictor), sea necesario un calentamiento más eficiente.

Es necesario realizar este estudio con otras cepas, para contrastar el efecto, entre otros, de una capa albina en vez de pigmentada.

Agradecimientos

Agradecemos al resto de compañeros de LAS su apoyo en este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Benedetti M., Merino R., Kusuda R., et al. *Plasma corticosterone levels in mouse models of pain*. European Journal of Pain 2012, 16(6):803-15.
- Dalm S., Enthoven L., Meijer OC., et al. *Age-Related Changes in Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activity of Male C57BL/6J Mice*. Neuroendocrinology 2005, 81(6):372-80.
- Girard I. and Garland T. Jr. *Plasma corticosterone response to acute and chronic voluntary exercise in female house mice*. Journal of Applied Physiology 2002, 92(4): 1553-61.
- Motulski H.J. *Prism v.4.0 Statistics Guide—Statistical analyses for laboratory and clinical researchers*. GraphPad Software Inc., San Diego CA. 2003.
- Otsuka T., Goto M., Kawai M., et al. *Photoperiod Regulates Corticosterone Rhythms by Altered Adrenal Sensitivity via Melatonin-Independent Mechanisms in Fischer 344 Rats and C57BL/6J Mice*. PLoS One 2012, 7(6):e39090.
- Sánchez O., Arnau A., Pareja M., et al. *Acute stress-induced tissue injury in mice: differences between emotional and social stress*. Cell Stress Chaperones 2002, 7(1):36-46.

Hoy, para cenar, salmón. ¡Transgénico, por supuesto!

Lluís Montoliu

Investigador Científico del CSIC y del CIBERER-ISCIII,
Centro Nacional de Biotecnología, Madrid

El 19 de noviembre de 2015 deberá inscribirse con letras doradas en la corta pero intensa historia de la biotecnología animal. Ese día, la FDA (Food and Drug Administration) norteamericana acordó finalmente aprobar la comercialización de AquaAdvantage®, el salmón transgénico producido por la empresa AquaBounty Technologies, para su consumo.

El salmón transgénico AquaAdvantage fue diseñado y generado por vez primera en el año 1989, hace 26 años, y los primeros resultados se publicaron en 1992. La empresa AquaBounty solicitó su autorización para su comercialización y consumo a la FDA por vez primera en 1995, hace 20 años. El salmón atlántico (*Salmo salar*) requiere unos 36 meses, tres años, para llegar al tamaño comercial. La inmensa mayoría de salmones que se consumen en la actualidad provienen de piscifactorías donde los animales siguen las pautas de crecimiento estacionales, creciendo fundamentalmente durante los meses cálidos de primavera y verano, siguiendo la expresión endógena del gen de la hormona de crecimiento. La característica diferencial del salmón AquaAdvantage es que incorpora un transgén que expresa el gen de la hormona de crecimiento del salmón Chinook del Pacífico (*Oncorhynchus tshawytscha*), bajo el control del promotor y las zonas reguladoras del gen de la proteína anti-congelante del pez anguila bentónico (*Zoarces americanus*) que vive en el Atlántico Norte. Así pues, en primer lugar, se trata de una construcción génica enteramente derivada de secuencias de ADN de peces. En segundo lugar, el transgén permite la expresión del nuevo gen de la hormona de crecimiento en los meses fríos, de otoño e invierno, cuando se activa el gen de la proteína anti-congelante de forma natural. Gracias a esta innovación biotecnológica, el salmón AquaAdvantage consigue mantener el crecimiento durante todo el año. En los meses primaverales y estivales, debido a su hormona de crecimiento endógena, y en los meses otoñales e invernales, debido a la hormona de crecimiento del transgén. El resultado de todo este proceso es que el salmón

AquaAdvantage crece mucho más rápido que el salmón natural y por ello llega al mismo tamaño comercial en unos 18 meses, apenas un año y medio, lo que es una característica única y biotecnológicamente aprovechable.

Tras numerosísimas pruebas e investigaciones realizadas, tras una larga lista de experimentos que la empresa ha tenido que realizar en respuesta a los sucesivos requerimientos de la FDA, esta agencia ha concluido que no hay diferencias significativas entre el salmón AquaAdvantage y el salmón atlántico natural de piscifactoría. No se pueden detectar diferencias significativas entre ambos salmones, ni de tamaño, ni organolépticas, ni nutricionales, más allá de la obvia diferencia genética de la presencia del transgén en el salmón AquaAdvantage. Tras los estudios de campo realizados, tampoco se describen consecuencias significativas para el medio ambiente, ni se considera tóxico de ninguna manera el consumo para personas y animales de este producto biotecnológico animal. Es por lo tanto un producto seguro para el consumo humano y para el medio ambiente, tan seguro como puede serlo cualquier otro salmón atlántico natural de piscifactoría. Tanto es así que la FDA no encuentra motivos que justifiquen su etiquetado diferencial, que, según la legislación norteamericana, debe estar basado en diferencias científicamente constatables. Y, por lo tanto, deja en manos de la empresa AquaBounty el decidir si quiere etiquetar el salmón AquaAdvantage, o no, voluntariamente, como producto transgénico, como animal modificado genéticamente.

La empresa biotecnológica AquaBounty merece ser destacada por su persistencia; por la constancia en sus objetivos; por haberse mantenido a flote en un entorno regulador, social y político totalmente desfavorable; por haber conseguido suscitar las expectativas de los sucesivos grupos de inversores durante tantos años (que invirtieron más de 60 millones de dólares); y por no haber cedido a las múltiples presiones sociales, políticas y económicas que ha sufrido durante más de dos décadas. Tras esta aprobación, verdadera punta de lanza, hay muchos otros desarrollos biotecnológicos animales, congelados y a la espera de ser aprobados: cabras transgénicas que producen lisozima en su leche, que puede usarse para combatir diarreas infantiles en países en vías de desarrollo; cerdos transgénicos con carne de

mayor calidad, con menor contenido graso y con la presencia de ácidos grasos poli-insaturados Omega-3, beneficiosos para la salud, etc. No solamente en EE.UU., sino principalmente en países asiáticos como China, con muchos de estos animales en diferentes fases de desarrollo.

La Biotecnología Animal está de enhorabuena. En menos de dos años podremos encontrar en los supermercados (estadounidenses) los primeros ejemplares del salmón AquAdvantage. La empresa AquaBounty, con el permiso recién conseguido, deberá reactivar ahora todo el proceso hasta lograr producir un máximo de 100 toneladas anuales (una producción todavía muy modesta, comparada con las más de 230.000 toneladas anuales que las piscifactorías de salmón producen en EE.UU.). Los huevos de estos salmones son producidos por la empresa en sus instalaciones de Prince Edward Island, en Canadá. Por seguridad, solamente se producen hembras, hemicigotas para el transgén, insertado en forma de una sola copia en el genoma del salmón. Además, todas ellas se producen como organismos triploides, con tres copias de cada cromosoma, en lugar de las dos habituales, y por lo tanto son estériles. El crecimiento de los mismos se efectúa en Panamá, en unos tanques acuáticos de AquaBounty confinados en el interior del país, alejados de la costa y de cualquier río o lago, nuevamente por medidas de seguridad, adicionales y redundantes.

Lamentablemente, el salmón AquAdvantage no será comercializado en Europa, por el momento. Para consumirlo deberemos viajar a Estados Unidos. En nuestro continente las presiones sociales y políticas de los grupos ecologistas y diversas organizaciones medioambientalistas relacionadas han logrado eficazmente conseguir que todos estos avances y desarrollos biotecnológico animales estén prohibidos para su comercialización y consumo en la Unión Europea, aunque todo ello sin ningún fundamento científico. Probablemente necesitemos en Europa otra generación, otros 26 años, para darnos cuenta de nuestro error. De nosotros, investigadores, biotecnólogos, divulgadores, también depende que este tiempo pueda reducirse. Mientras tanto el resto del planeta seguirá progresando y en Europa seguiremos asistiendo como meros espectadores a los avances en biotecnología animal desarrollados en otros continentes.

25
AÑOS
1.990 - 2.015

TÚ TAMBIÉN PUEDES SER
PARTE DE LA SECAL
¡HAZTE SOCIO!

www.secal.es

SECAL sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

www.secal.es

Usos de animales en experimentación. España 2014

Ángel Naranjo Pino

Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC)

En noviembre, se publicó en la página web del MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) el "Informe sobre usos de animales en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia en 2014". Tanto la Directiva 2010/63/UE (1), relativa a la protección de los animales utilizados con fines científicos, como el Real Decreto 53/2013 (2), por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia, que traspone la directiva, establecen la obligatoriedad de la publicación de los animales utilizados en los procedimientos y la severidad real de los mismos.

La nueva legislación introduce diferencias en los datos que hay que recoger respecto al Real Decreto 1201/2005 (3). Anteriormente se recogía el número de animales mientras que a partir del año 2013 se recoge su uso. Por lo tanto, un animal puede contarse varias veces, tantas como se use en el caso de que haya reutilización. Esta legislación incluye especies y estadios que no se contabilizaban en la anterior legislación, como es el caso de los cefalópodos y los fetos de mamíferos en el último tercio de gestación. Además, incluye situaciones nuevas en las que es necesario tener un procedimiento aprobado y contar todos los usos de los animales, como es el caso de mantenimiento de líneas alteradas genéticamente con fenotipo adverso.

Los datos variaban muy poco durante los años 2009-2013, pero debido a la nueva legislación han aparecido cambios en el informe del 2014 (4). Aunque, por lo que hemos comentado en el párrafo anterior, es complejo comparar los resultados de otros años con los resultados del 2014, algunos de los datos sí pueden darnos pistas de cómo se están implementando aspectos de la nueva legislación (ver Tabla 1 y Figura 1).

	Número de usos	Número de animales
	2014	2013
TOTAL	808.224	920.458
Ratones	457.267	663.062
Ratas	61.388	104.949
Cobayas	6.623	12.168
Hámsteres	1.045	1.527
Conejos	23.881	27.841
Perros	765	774
Primates	489	314
Aves (gallinas + otras)	44.161	32.030
Peces (zebra + otros) ^a	190.354	54.748
Grandes animales ^b	11.795	13.219
Ranas + anfibios	5.559	8.927
Cefalópodos	4.800	-
Otros ^c	97	899
Alterados genéticamente	218.054	-
Con fenotipo patológico	30.984	-
Mantenimiento líneas ^d	8.302	-

Imagen suministrada por la autoría

Tabla 1.- Comparación del número de usos del 2014 y del número de animales del 2013: a) Pez zebra: 58.793 en 2014, b) Vacas, équidos, cerdos, ovejas y cabras, c) Gatos, hurones, reptiles, otros roedores o mamíferos y d) Sin uso en otros procedimientos.

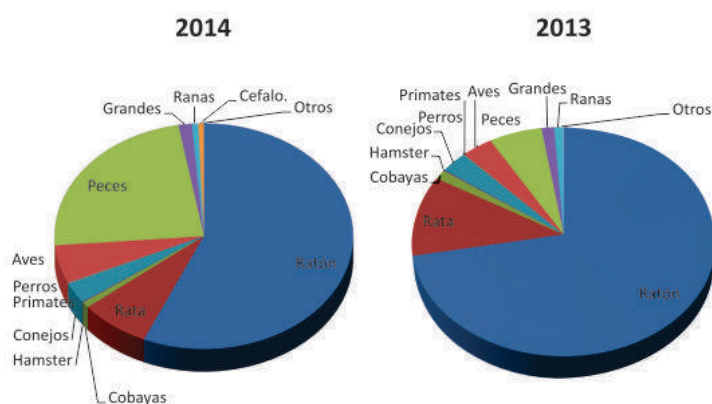


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Comparación del número de usos del 2014 y del número de animales del 2013

Revisando los datos vemos que el uso total de animales en 2014 (808.224) es algo inferior al número total de animales utilizados en el 2013, aunque en 2014 se cuenten las reutilizaciones y haya más usos a contar como hemos descrito anteriormente (cefalópodos, fetos de vertebrados y mantenimiento de líneas).

El número de usos de conejos, perros, y primates en 2014 es muy similar al número de animales utilizados de estas especies durante el 2013. Las diferencias se observan más en otras especies como ratones y ratas, lo que es normal ya que son las especies más utilizadas. En 2014 se observa un aumento en el uso de peces debido a que varía la forma de contabilizarlos, mientras que en los informes anteriores (2010-2013) se contabilizaban todos los peces en el mismo campo, en el informe de 2014 se contabilizan de forma separada los usos de peces zebra y los usos de otros peces. A pesar que el número de peces zebra es similar al del 2013, la suma de peces zebra y otros peces proporciona un gran aumento en el número de peces. Algo similar pasó en el año 2010 cuando se contabilizaron 473.683 peces mientras que en el periodo 2011-2013 cada año se contabilizaron alrededor de 55.000.

Por lo tanto, si el número de peces se hubiera mantenido en la media y descontáramos del total de usos de animales los otros peces (135.606), los cefalópodos (4.800) y los reutilizados (14.552), que no se contabilizaban en los informes del 2011-2013, el descenso en el número total de animales -respecto al 2013- habría sido del 29% (657.363 vs 920.458).

Es posible que este descenso en el uso de animales sea debido a un mayor uso de técnicas alternativas o bien a un descenso en la capacidad económica de los proyectos. Aunque, también, es posible que sea debido a que al ser datos de una legislación que entró en vigor en el 2013 y que requirió un tiempo hasta su aceptación por parte de los centros, investigadores y usuarios, no refleje aún la situación del uso de animales en investigación.

Nadie tiene la respuesta y ya se irá viendo cuál es la evaluación de los datos a lo largo de los años. En cualquier caso, difícilmente se explicarán descensos o aumentos del uso de animales en los próximos años si no conocemos los datos de técnicas alternativas utilizadas, proyectos aprobados y presupuestos de los proyectos. Podemos correr el riesgo que una defensa de un dato de descenso de animales de un año se vuelva en contra en años venideros aunque la proporción de usos de animales no varíe.

Los datos de reutilización, mantenimiento de colonias y usos de animales alterados genéticamente no se pueden comparar con el 2013 porque no se contabilizaban, pero sí se pueden analizar comparando los totales del 2014 con informes de otros países en los que se han recogido los datos de la misma forma que en España.

Un dato que llama la atención es la reutilización de animales. Aunque la reutilización se puede dar en cualquier especie animal utilizada en experimentación se da más en especies como primates, perros, cerdos, ovejas, cabras, gatos, vacas y caballos. Sin embargo, si sumamos todos los usos salen menos que esos 14.552 animales que se reutilizan y obviamente muchos de ellos no se han reutilizado. Durante la primera fase de la implementación de la nueva legislación surgieron dudas sobre el término reutilización, en algunas ocasiones se confundía reutilización con un uso continuado de un animal en varios procedimientos. Es posible que en algunos casos estos términos hayan podido provocar dudas.

El número de animales alterados genéticamente es de 218.054 y de ellos 30.984 presentan fenotipo patológico (ver Figura 2). Probablemente, la gran mayoría de los animales alterados genéticamente son ratones y peces zebra, lo que supone que del total de ratones y peces zebra, el 42.2% son alterados genéticamente y de ellos, el 14.2% presentan fenotipo patológico. Comparándolo con el informe publicado por el Reino Unido, presenta datos del 42.2% vs 45% para alterados genéticamente y del 14.2% vs 24% para el fenotipo patológico. La diferencia entre el porcentaje de usos de animales con fenotipo patológico puede ser debida a la diferencia de criterio de valoración del fenotipo.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Número de animales usados según su genotipo.

El otro dato que sorprende es el de animales dedicados al mantenimiento de líneas y no utilizados en otros procedimientos (8.302). Éste es uno de los datos que podía suponer un aumento con respecto a otros años en el número total de animales y, sin embargo, supone alrededor del 0.01% del total de los animales utilizados. Es difícil comparar este dato con los de otros países porque en algunos casos las estadísticas consultadas no lo reflejan (Alemania, Irlanda, Israel, Finlandia y Suiza; 5) y, en otros casos, como el Reino Unido, el dato que publican es de mantenimiento y creación de líneas conjuntamente. El número de usos de animales para creación y mantenimiento en el Reino Unido supone el 50% del total de animales. Si de ese dato quitáramos el número de animales utilizados para la creación el porcentaje bajaría, pero parece evidente que el descenso no sería hasta el 0.01%. Es probable que en los próximos años el número de animales utilizados en mantenimiento de líneas se incremente a medida que se incrementa el número de proyectos que incluyen mantenimiento de líneas.

Otra de las novedades del informe es la inclusión de la severidad de los proyectos. Comparándolo con los datos publicados en el Reino Unido (6,7), los porcentajes son muy similares (ver Tabla 2).

	España	Reino Unido
TOTAL	808.224	1.925.283
Sub umbral *	-	9%
Sin recuperación	12%	7%
Leve	52.6%	51%
Moderado	27.3%	25%
Severo	7%	8%

Imagen suministrada por la autoría

Tabla 2.- Severidad de los proyectos España y Reino Unido. * En el Reino Unido, casos en los que animales asignados a un procedimiento, tras una evaluación retrospectiva, no alcanzaron umbrales de alteraciones del bienestar.

En Reino Unido, los datos de porcentaje del uso de animales dependiendo de la severidad de los procedimientos llevan publicándose desde hace años. Los porcentajes entre España y Reino Unido son muy parecidos, lo que permite deducir que las evaluaciones, respecto a la severidad, en su conjunto, se están realizando de forma similar.

Éste es el primer informe realizado de acuerdo a la Directiva 2010/63/UE. Probablemente, la experimentación animal sea uno de los sectores regulados en los que más datos se dan de animales utilizados.

El informe permite el seguimiento del uso de animales, así como comparar los datos con los de otros países en los que se ha implementado la directiva. Uno de los objetivos de la misma es la reducción del número de animales utilizados en los proyectos. Aunque en los datos del año 2014 hay un descenso en el uso de animales, es posible que en los próximos años sea diferente. La transparencia es uno de los factores fundamentales en la comunicación entre la experimentación animal y la sociedad. Sin embargo, la publicación de los datos sin una explicación complementaria puede dar lugar a interpretaciones erróneas y puede servir como justificación para exigir restricciones en el uso de animales de experimentación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Directiva 2010/63/UE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre, relativa a la protección de los animales utilizados con fines científicos.
2. Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.
3. Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos.
4. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio ambiente. Bienestar Animal. Informes 2009-2014.
5. Speaking of Research. Animal research statistics.
6. Annual statistics of scientific procedures on living animals Great Britain 2014.
7. Understanding Animal Research. Annual Statistics of Scientific Procedures on Living Animals 2014.



INSTRUMENTACIÓN E INSTALACIONES CIENTÍFICAS

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

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



- 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



Medición de partículas en suspensión en alojamientos de roedores: un caso práctico

J.A. Moreno^{1,2}, M. Collado², J. Pairada², N. Moix², A. Ardèvol², L. Fabre², C. Piñol³

¹ Departamento de Producción Animal, Universidad de Lleida-Centro Agrotécnico, Lleida

² Servicios Científico Técnicos, Universidad de Lleida, ³ Departamento de Medicina, Universidad de Lleida

La necesidad de valorar las partículas en suspensión

En los estudios de ambiente de los animalarios es común encontrar valores de temperatura, humedad relativa y, en algunos casos, también de renovaciones de aire, intensidad de luz y hasta concentración de algunos gases como dióxido de carbono o amoníaco. Sin embargo, es poco frecuente disponer de otros datos también relevantes como el sonido o la concentración de partículas sólidas (polvo) en el aire y del tamaño de estas partículas. Este tipo de mediciones han de contextualizarse dentro de un programa de control ambiental integral.

A lo largo del tiempo se han propuesto varios métodos para el estudio de la concentración de partículas sólidas en el ambiente, pero en general son laboriosos y poco precisos. Cuando se buscan sistemas que ofrezcan la precisión suficiente, el precio los puede convertir en inalcanzables. Para determinar la naturaleza de las partículas se emplean fundamentalmente métodos ópticos, especialmente microscopía electrónica de barrido, así como métodos químicos (Allen, 2003). En este artículo no se entrará en la determinación precisa de la naturaleza de las partículas presentes.

Las partículas en suspensión se han clasificado en rangos de tamaño por su capacidad de penetración en el aparato respiratorio: por debajo de 10 μm son consideradas "partículas inhalables"; por debajo de 2.5 μm "partículas finas" (ver Figuras 1 y 2); y las inferiores a 0.1 μm se consideran partículas "ultra finas" (Miller *et al.*, 1979).

Las partículas entre 5 y 10 μm se depositan preferiblemente en la zona traqueo-bronquial. Si el tamaño reside entre 1 y 5 μm se alojan en los bronquiolos y alveolos, llegando a afectar el intercambio gaseoso. Estas partículas son expulsadas por el mecanismo mucociliar o bien fagocitadas por los macrófagos. Sin embargo, las partículas ultra finas (<0.1 μm) son capaces de atravesar rápidamente la membrana pulmonar e incluso pueden



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Polvo aglutinante en una rejilla de extracción. Este tipo de polvo está formado por partículas aglutinantes finas, sustancias húmedas y materiales fibrosos.

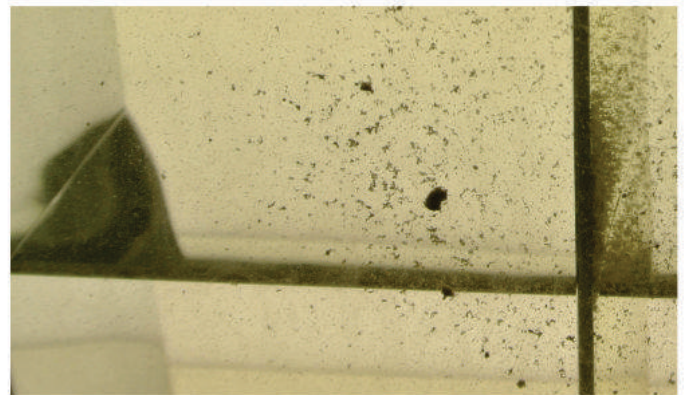


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Polvo atrapado en el interior del cristal de una luminaria. La mayor parte de estas partículas son partículas aglutinantes finas y han atravesado un poro en el siliconado.

acumularse en el cerebro atravesando el epitelio olfatorio (Geiser *et al.*, 2005).

Los problemas derivados de las partículas en suspensión pueden ser de índole sanitario tanto en humanos como en roedores, ya sea por la acción física de la propia partícula o de

forma indirecta por la posibilidad de transportar microorganismos. Los filtros y otros mecanismos sofisticados pueden ver alterada su funcionalidad por el depósito excesivo de partículas.

Los límites de partículas en suspensión en el ambiente están regulados por la Directiva 2008/50/CE y los métodos de medición están estandarizados por el protocolo EN12341:1998 para las partículas PM10 y por el protocolo EN14907:2005 para las partículas PM_{2,5} (Quincey and Butterfield, 2009).

¿Cómo y cuándo valorar las partículas en suspensión?

Para realizar la medición de la concentración de partículas en suspensión y su tamaño medio usamos un nefelómetro DataRam 4 (Thermo Fisher Scientific, Franklin, MADISON, USA), que puede trabajar con flujos de aire variables de entre 1 y 3 litros por minuto (ver Figura 3). De forma rutinaria, se empleó un caudal de 2 L/minuto (DataRam4, 2009).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Medidor de partículas trabajando en una sala de alojamiento de ratones. Obsérvese la mala posición del rack central, que dificulta la salida del aire por la rejilla de extracción.

Este sistema funciona con dos fuentes de luz que emiten en distinta longitud de onda (660 y 880 nm) de forma pulsátil y alternativa con 27 pulsos por segundo; el coeficiente de dispersión de la luz emitida al chocar con las partículas es el dato primario que utilizan los algoritmos de cálculo para establecer la concentración y tamaño de partícula. Es necesario un software específico para el volcado y posterior análisis de los datos con cualquier hoja de cálculo. Esta técnica de medición está calibrada con el método estándar de medición de partículas en suspensión, que es el método gravimétrico.

Se tomaron medidas continuas en diferentes salas de ratones, alojados en jaulas abiertas de policarbonato y lecho de viruta de chopo de tamaño medio (15 mm²) y ambiente convencional, para determinar las diferencias entre salas y entre los diferentes periodos del día (mañana, tarde y noche).

En una sala de alojamiento de ratones de estas características, se consideraron cuatro focos fundamentales de emisión de partículas: personal e investigadores, ratones, viruta y pienso. El aire de entrada a las salas pasa por un filtro de fibra para retener las partículas groseras (ver Figura 4).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Partículas groseras de polvo procedentes del pienso (izquierda) y del lecho de viruta (derecha).

Las partículas más gruesas de 10 µm (ver Figura 5) son retenidas en la máquina por un pre-filtro que evita que sean valoradas. Las partículas de tamaño inferior a 10 µm son evaluadas en su tamaño medio y concentración en el aire, para establecer las diferencias entre las distintas salas durante el periodo de trabajo normal de los investigadores y cuidadores.

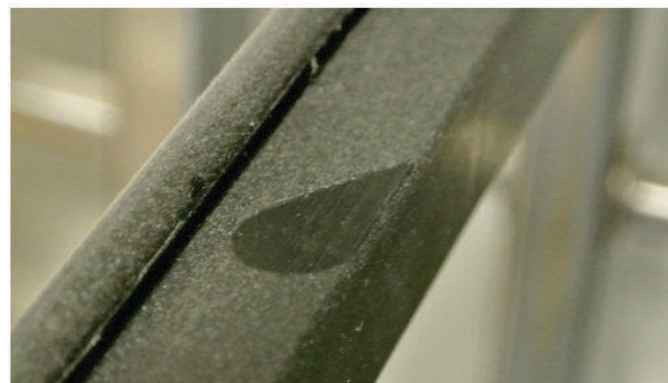


Imagen suministrada por la autoría

Figura 5.- Polvo depositado en el carril de soporte de una jaula. La ausencia de corriente de aire facilita una distribución uniforme del polvo. La mayor parte de las partículas encontradas en este caso serán mayores de 10 µm.

Puesto que todo parece indicar que las características y cantidades de partículas en suspensión en el aire dependen fundamentalmente de la actividad de la sala (tipo e intensidad), proponemos agrupar los datos en tres periodos diferenciados:

- Mañana: en este periodo se concentra la actividad humana, tanto de técnicos como de investigadores, y comprende de las 7 a las 13 horas.
- Tarde: durante este periodo la actividad tanto humana como de los roedores es mínima y comprende desde las 13 a las 19 horas.
- Noche: es el periodo que refleja únicamente la actividad de los ratones y abarca las 12 horas en las que la sala está oscura, de las 19 a las 7 horas del día siguiente.

La máquina se instaló en el centro geométrico de la sala y el aire fue tomado a una altura de 50 cm del suelo, coincidiendo con las corrientes de evacuación hacia las rejillas de extracción. La precisión de este tipo de mediciones aconseja que la máquina esté perfectamente calibrada por un centro autorizado y que el protocolo de medición esté normalizado y acreditado por alguna entidad certificadora.

Para valorar las diferencias entre las 5 salas de ratones, se hicieron mediciones en la franja horaria de 7 a 13 horas durante 5 días. Los datos corresponden a la media para tamaño y concentración de partícula presente en el flujo de aire que pasa por la máquina. Para su interpretación, los datos se agruparon por horas del día y sala.

Para determinar la influencia de la actividad total humana más la animal sobre la concentración de polvo y tamaño medio de partícula, se realizaron medidas durante 24 horas y se repitieron durante 5 días en una de las salas (S2). Los datos obtenidos corresponden a la media de cada 10 segundos y agrupados por bloques (mañana, tarde y noche). La variación en la concentración de partículas en el aire durante el periodo de noche da una idea sobre la actividad de los ratones.

Resultados obtenidos en distintas salas

Aunque las salas de alojamiento son muy similares y todas están ventiladas por el mismo sistema y con la misma temperatura, humedad relativa y renovación de aire, se

encontraron diferencias significativas en la concentración de partículas en suspensión durante el periodo de mañana (7 a 13 horas). No obstante, las concentraciones encontradas son muy bajas en todas las salas, e inferiores a las concentraciones máximas recomendadas por la Unión Europea en entornos laborales (ver Figura 6).

Las diferencias entre las salas pueden ser debidas fundamentalmente a la actividad de técnicos e investigadores en cada una de ellas. Aunque la densidad de animales es muy similar entre salas, existen diferencias en cuanto a las cepas alojadas y los distintos etogramas de las líneas de ratones pueden contribuir a incrementar estas diferencias.

Los gráficos de concentración de partículas en suspensión son de gran utilidad para orientar acciones como: intensificación de limpieza, redistribución de colonias, estudio de flujos de aire, etc.

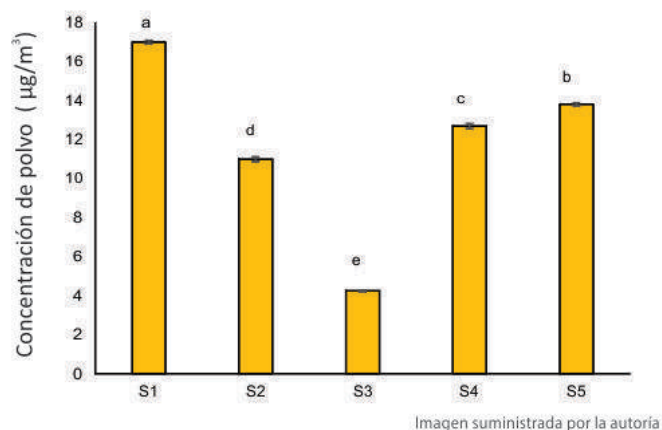


Figura 6.- Concentración de partícula en suspensión medida durante la mañana en cada una de las salas estudiadas y expresada como media \pm error estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

El tamaño medio de partícula de todas las salas (ver Tabla 1) se sitúa en el rango de las partículas finas (entre 2.5 y 0.1 μm), aunque bastante cerca de las partículas ultrafinas ($< 0.1 \mu\text{m}$). Con una distribución normal de tamaño de partícula entorno a las medias obtenidas, la probabilidad de tener partículas ultrafinas es muy baja.

Las diferencias de tamaño de partícula entre salas, aunque estadísticamente significativas, se consideran poco relevantes desde el punto de vista práctico, puesto que todas disponen de un poder de penetración similar en el sistema respiratorio.

Sala	Diámetro (μm)
S1	0.235 ± 0.051 ^{cd}
S2	0.241 ± 0.056 ^b
S3	0.371 ± 0.102 ^a
S4	0.230 ± 0.056 ^d
S5	0.239 ± 0.051 ^{bc}

Imagen suministrada por la autoría

Tabla 1.- Tamaño de partícula (media \pm error estándar) durante la mañana. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Resultados en diferentes momentos del día en una misma sala

En la evaluación de la concentración de partículas y tamaño medio de las mismas en una de las salas de alojamiento a lo largo de diferentes momentos del día (mañana, tarde y noche), se obtuvieron diferencias entre los tres periodos para las dos variables (ver Figura 7). El periodo que presentó una concentración menor corresponde al periodo de tarde (13-19 horas), tramo horario con muy escasa actividad humana y animal. La mayor concentración se halló por la mañana, coincidiendo con el periodo de máxima actividad humana.

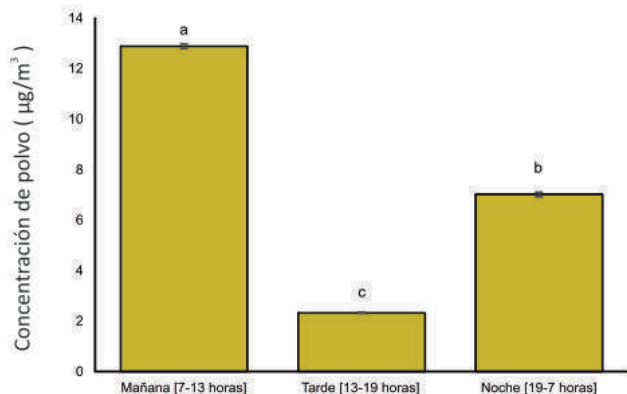


Imagen suministrada por la autoría

Figura 7.- Concentración de partícula en suspensión en diferentes momentos del día en una misma sala de ratones. Las diferencias entre las medias pueden ser explicadas por las características e intensidad de la actividad.

Los datos de concentración de polvo obtenidos durante el periodo de noche sugieren que la actividad de los ratones no es constante y que, inmediatamente después del apagado de la luz, se produce un pico con una duración de entre 1 y 2 horas, que después disminuye durante unas 6 horas y vuelve a aumentar durante las 3 horas previas al encendido de la luz (ver Figura 8).

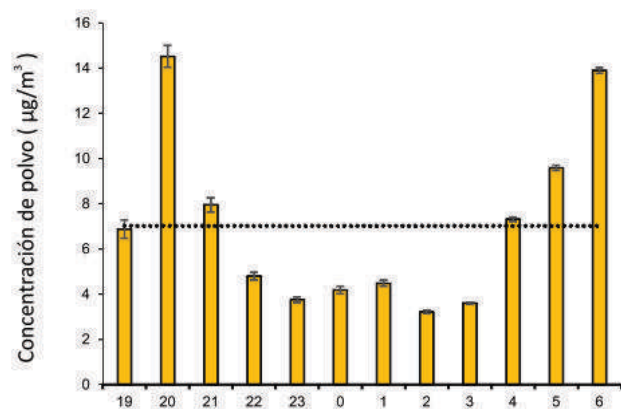


Imagen suministrada por la autoría

Figura 8.- Concentración de polvo en suspensión media durante las horas de la noche medidas en una misma sala durante 5 días.

Conclusiones

La variabilidad de resultados entre las diferentes salas y periodos del día, e incluso durante la noche, sugieren que el control por protocolo de la concentración y tamaño de partícula en suspensión puede darnos información útil para valorar diferentes aspectos del manejo de una instalación de roedores. Abarcaría aspectos de control ambiental, actividad humana, actividad de los animales, calidad de pienso o de la viruta, entre otros.

La medición de partículas en suspensión mediante el uso de un nefelómetro permite disgregar por tamaño de partícula y puede ser incorporada a los protocolos de control de calidad ambiental de las instalaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen T. *Powder Sampling and Particle Size Determination*. Elsevier Science, 2003, 1-55.
- Instruction Manual DataRAM 4 Model DR-4000, 2009.
- Geiser M., Rothen-rutishauser B., Kapp N., et al. *Ultrafine Particles Cross Cellular Membranes by Nonphagocytic Mechanisms in Lungs and in Cultured Cells*. Environ Health Perspect 2005, 113(11):1555-60.
- Miller F. J., Gardner D. E., Graham J. A., et al. *Size considerations for establishing a standard for inhalable particles*. J. Air Pollut. Control Assoc. 1979, 29(6):610-5.
- Quincey P. and Butterfield D. *Ambient air particulate matter PM10 and PM2.5: developments in European measurement methods and legislation*. Biomarkers 2009, 14(1):34-8.



Dietas y geles



Lechos y virutas



Enriquecimiento



Jaulas y racks



Mantenimiento



Equipos de lavado



Racks ventilados



Sistemas acuáticos



Otros equipos

Loa al Café laboral

Javier Fidalgo

Socio -Consultor en área de liderazgo (www.aredeliderazgo.com)

Pedro J. Ramírez parece empeñado en convertir la mesa de ping-pong que tienen en las oficinas del periódico El Español en una institución. No dejo de ver o escuchar referencias a las entrevistas de distintos políticos alrededor de la cada vez más famosa mesa de juego¹. Supongo que es uno de los símbolos con los que Ramírez quiere identificar su propuesta de actualizar el periodismo escrito.

La mesa de ping-pong es, me parece, un símbolo de modernidad empresarial. En las oficinas de Google (ver Figura 1), en Santa Clara y Nueva York, y de Apple, en Cupertino, además de otras muchas cosas tienen mesa de ping-pong.



Figura 1.- Oficinas de Google.

Imagen suministrada por la autoría

En una rapidísima ojeada en la web encontré: varios artículos acerca de los beneficios de tener una mesa de ping-pong en el trabajo, un estudio científico sobre la capacidad de mantener el espíritu juvenil entre los empleados que practiquen el tenis de mesa en el trabajo, y otro artículo que, sabiamente, advierte de que poner una mesa de ping-pong no logrará por sí sola generar buenrollito donde no lo haya (1,2,3).

En todo caso, se dice del ping-pong laboral que reduce el estrés, produce una mejora física y mental, divierte y permite interactuar socialmente y conocer gente (en el caso de El Español también les sirve para realizar entrevistas). Es la parte de interacción social la que ahora me interesa.

¹La mesa de ping-pong en acción: Pablo Iglesias <https://youtu.be/CAhMwxjPjI>, Albert Rivera <https://youtu.be/Er25rR6KHmE> y Pedro Sánchez <https://youtu.be/ZhcU6fvBsQI>

Una empresa antes que empresa es un grupo social. Hace ya muchos años que todas las sociedades "modernas" son desiguales, ya que hay gente que tiene más fácil acceso a ciertos bienes, servicios y posiciones sociales que otros. Para que esa desigualdad no genere desorden social, los seres humanos hemos inventado varias formas de legitimarla. Como explica Harold R. Kerbo (4), para mantener el orden social es necesario que todos, sobre todo los que resultan más desfavorecidos, acepten esa desigualdad como inevitable. Por ejemplo, en la India, una ideología religiosa, el hinduismo, legitima una desigualdad ordenada en castas porque una fuerza sobrenatural lo quiere así. En EE.UU., otra ideología, en este caso no religiosa, llamada igualdad de oportunidades, "ayuda" al desfavorecido proporcionándole una justificación aceptable de su situación: *mi condición es consecuencia de no haberme esforzado lo suficiente*.

Es interesante distinguir entre lo que una sociedad dice que hace y lo que realmente hace. En la India el sistema de castas está prohibido por ley pero en muchos lugares sigue operando. En el caso norteamericano, es cuando menos dudoso que el "fracaso social" en EE.UU. sólo dependa de no haber aprovechado tu igualdad de oportunidades.

Lo mismo ocurre en la empresa.

Existe una desigualdad entre los empleados que es legitimada, de forma más evidente, por una estructura jerárquica. Además, también hay diferencia entre lo que se dice y lo que realmente se hace. Casi todos los que entramos en contacto por primera vez con la empresa oímos decir y suponemos que la actividad laboral diaria más importante es hacer el mejor uso de tus conocimientos técnicos para contribuir al logro de la empresa. Sin embargo, como la experiencia rápidamente demuestra, mantener el orden social interno resulta al menos tan esencial como lo otro.

Lo que ahora recuerdo como mejor ejemplo de lo que digo tiene que ver con el nacimiento del uso del correo electrónico en la empresa. Quienes vivimos la experiencia tuvimos que aprender a usar técnicamente el Outlook, lo que fue fácil, y acomodar su uso al orden social de la empresa, lo que no lo fue tanto. No se trataba sólo de responder a un mensaje recibido expresando el punto de vista profesional. Aprendimos, ofendiendo y rectificando con nuevos mensajes, que además de la respuesta

Factor Humano

técnica profesional, había que hacer un uso socialmente aceptable del Outlook: a quién de la jerarquía enviar el mensaje, a quién/es enviar copia y a quién no, a quién enviar copia pero oculta, etc. Tan importante es la dimensión social que, de hecho, a partir de cierto nivel de inconveniencia, el contenido del correo electrónico era ignorado por los destinatarios en beneficio de aclarar al remitente ese orden social que, a menudo sin querer, había cuestionado².

Las interacciones sociales dentro de la empresa están en parte reguladas por su estructura jerárquica. El objetivo de organizar la empresa distribuyendo a la gente en diferentes departamentos y definiendo una jerarquía, tiene la ventaja de generar un orden y una coordinación suficientes para que la actividad laboral contribuya a *lo que sea que la empresa quiere conseguir*. Sin embargo, genera algunos inconvenientes. Por ejemplo, no pocas veces la persistencia de mucha de la ineficacia y de bastantes problemas que se padecen en las organizaciones resulta de las limitaciones sociales para atender de forma puramente técnica el asunto. La jerarquía dificulta o impide (según la flexibilidad de cada organización) que se tenga acceso directo a ciertas personas con las que, de poder intercambiar opiniones con libertad, algunos problemas se mitigarían rápidamente.

Es aquí donde reside la importancia del *Café*, en concreto del espacio social que se crea en torno a él.

El *espacio para el café* provee de oportunidades para traspasar las barreras que dividen socialmente a la empresa.

- **Las barreras horizontales entre departamentos:** Por ejemplo, cuando se habla con *los de informática*, habitualmente confinados en su departamento, y descubres dimensiones de su trabajo que no conocías. Los humanizas y empatizas con ellos y pasas de *llamar a uno de informática a llamar a Juan Carlos de informática*. Esto puede parecer una sutileza pero no lo es en absoluto, tiene evidentes efectos prácticos en el trabajo.
- **Las barreras verticales entre la jerarquía:** Por ejemplo, puede que ese problema de relación con cierta persona que afecta a tu trabajo y que no abordas, porque parece que nunca hay tiempo para *decírselo a tu jefa para que ella hable con su jefe para que este se lo dijera a él*, sea resuelto a través de una conversación informal directamente con ese jefe.

²Por cierto, que aprender las reglas sociales del uso del correo electrónico sigue siendo necesario a tenor de algunos cursos que se ofrecen al respecto.

En fin, la información fluye con más facilidad a lo largo de la empresa atravesando vertical y horizontalmente las cercas organizacionales. La colaboración aumenta y se encuentran con más facilidad soluciones a problemas compartidos entre departamentos.

Esmi experiencia.

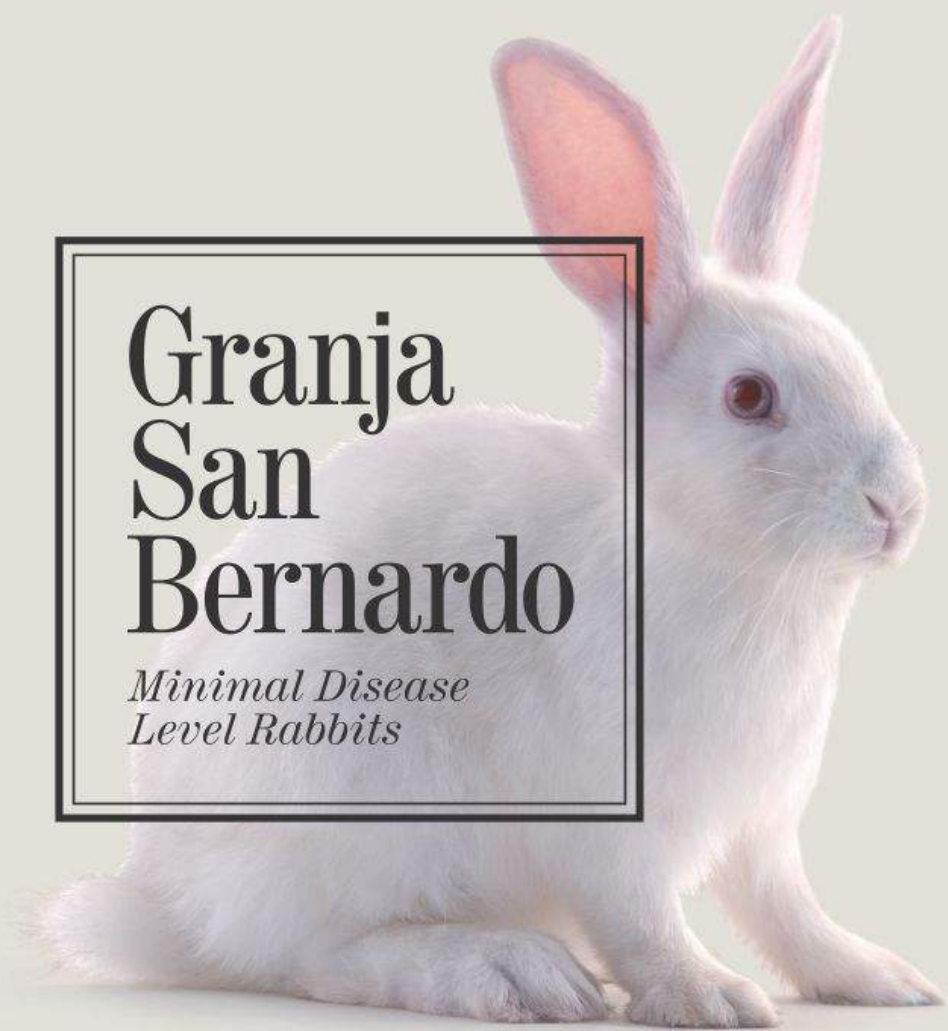
Aun cuando el contenido de las conversaciones no sea parecido al descrito, sino dedicado a despotricar contra algo/alguien de la empresa, esas charlas siguen siendo beneficiosas para la organización y las personas, ya que *el espacio para el café* legitima oportunidades para expresar ese malestar, que no desaparece por callarlo, y transformarlo en algo "gestionable".

Generar un *espacio para el Café* que posibilite la comunicación vertical, entre jerarquías, es más difícil y, por tanto, me parece menos habitual. Tampoco hay que olvidar, como advertía la articulista respecto a la mesa de *ping-pong*, que por sí solo el *espacio para el Café* no va a fomentar un tipo de interacción social más fluida allá donde culturalmente esté penalizada. Aun así, me desconcierta que ciertas empresas acepten a regañadientes, como imposición cultural, sindical, etc. el tiempo laboral para el café suponiéndolo una pérdida de tiempo. A mi entender debería hacerse lo contrario, si no obligar al menos animar a todos los empleados a acudir a la máquina de café para dedicar 15 minutos por jornada a mantener conversaciones con *extraños*.

La aceptación y estimulación del uso laboral del tiempo para el café es, a mi juicio, una expresión tan útil y moderna como la mesa de *ping-pong* de El Español o de Google.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jaffe E. *Why offices full of ping-pong tables and video games might be onto something*. Recuperado de: <http://www.fastcodesign.com/3047647/evidence/why-offices-full-of-ping-pong-tables-and-video-games-might-be-onto-something>, 22 de junio 2015.
2. Suttie H. *10 reasons why you need table tennis work*. Recuperado de: <https://www.linkedin.com/pulse/10-reasons-why-you-need-table-tennis-work-heather-suttie>, 14 de marzo 2015.
3. Meyer K. *Think Culture is about ping-pong Tables? You are Wrong*. Recuperado de: <http://www.entrepreneur.com/article/236240>, 6 de agosto 2014.
4. Kerbo H.R. *Estratificación social y desigualdad. El conflicto de clases en perspectiva histórica comparada*. Ed. S.A. McGraw-Hill / Interamericana de España, 2012.



Granja San Bernardo

*Minimal Disease
Level Rabbits*

New Zealand White Rabbit.
Total absence of all important rabbit disease germens
with specific sanitary garantees.

Ask our most recent garantee table at
www.granjasanbernardo.com



¿Adiestramiento veterinario?

María Jesús Ramírez González

Centro de Investigaciones Biomédicas de Aragón (CIBA)

Mi nombre es María Jesús Ramírez González y trabajo como cuidadora en el Servicio de Animalario del Centro de Investigaciones Biomédicas de Aragón (CIBA). Comencé a dedicarme al cuidado de animales en el año 2003 y, desde entonces, he tenido la oportunidad de manejar diferentes especies de animales salvajes, de abasto y destinadas a investigación.

Desde que empecé a trabajar en el mundo del animal de experimentación mi principal motivación ha sido procurar que vivan de la forma más confortable posible, lo que pasa por evitar que sufran miedo o estrés. En mi opinión, es imprescindible ponerse en la piel del animal, independientemente de la especie, para valorar si nuestras acciones suponen un estresor y buscar alternativas factibles para evitarlo, de la misma manera en que, por ejemplo, trasladamos un ratón de una cubeta a otra evitando "aterrizajes forzosos", ya que sabemos que a los ratones les dan algo de reparo las alturas. Obviamente cada especie es un mundo, y por eso creo que los cuidadores también tenemos por misión conocer en profundidad el comportamiento de las especies con las que trabajamos, es decir, su biología.

El adiestramiento veterinario consiste básicamente en enseñar a los animales a relajarse para poder realizar procedimientos no dolorosos sin necesidad de contención o sedación y además, disminuir su estrés durante su estancia y cuidados, lo que resulta muy beneficioso para todos. Mejorar la estancia de los animales nos enriquece también a nosotros como profesionales.

En este artículo me gustaría centrarme en mi experiencia con cerdos destinados al Servicio de Cirugía Experimental, porque junto con las ratas son los animales que más satisfacciones me han proporcionado como cuidadora.

El cerdo es una especie muy interesante y divertida de manejar por su carácter gregario y la capacidad de aprendizaje que muestra, aunque los comienzos pueden llegar a ser realmente duros por el miedo que nos tienen y las vocalizaciones tan sumamente molestas que emiten.

En muchos casos, los cerditos permanecen individualizados en las instalaciones durante largos periodos de tiempo, en los que de forma habitual hay que realizar distintos procedimientos, como extracción de sangre, ecografías, curas o simplemente administrar medicamentos. Todas estas operaciones resultan especialmente complicadas debido al tamaño y fuerza de los cerdos, que aunque suelen ser de un peso muy inferior al que tienen los que podemos encontrar en cualquier granja para alimentación, siguen siendo muy complicados de manipular.



Imagen suministrada por la autoría

Este adiestramiento veterinario comienza en el momento en que los cerdos llegan a nuestras instalaciones. Hay que tener en cuenta que la carga, transporte, descarga, alojamiento y ducha son muy angustiosos para ellos; por eso, intento ser extremadamente delicada en estas operaciones y después, dejarles tranquilos durante al menos un día. Al día siguiente, en cuanto abro la puerta de la instalación, comienzan a gritar y me vuelven loca, pero con unos buenos cascos me es posible soportarlo. Ahora el primer paso consiste en armarse de paciencia y aguantar las vocalizaciones en silencio mientras realizo las tareas de limpieza con movimientos delicados y evitando ruidos. Aunque se les aloje en solitario, se permite que tengan contacto visual entre ellos. Me es de gran ayuda poder soltarlos individualmente mientras limpio cada hueco, de manera que les doy la oportunidad de tener mayor contacto con sus compañeros y alejarse de mí mientras realizo mis tareas. Éste es el momento en el que comienza el acercamiento: después de todo son animales curiosos y juguetones. Mientras están fuera de su cubículo suelen dedicarse a reconocer a los demás cerdos, explorar y mordisquear

todo lo que tienen a su alcance, por lo que les dejo premios por el suelo, como galletas o quesitos. Al principio puede ser que los ignoren porque están asustados, pero poco a poco se acercan y los cogen pudiendo aprovecharlo para guiarles de nuevo hacia su hueco, aunque casi nunca funciona el primer día. Ofrecerles estas chucherías les hace asociar el momento de la limpieza con algo positivo y de alguna manera, se alegran de verme entrar.

Cada día que paso con ellos tienen más interés en acercarse a mí y puedo ofrecerles los premios directamente con la mano o incluso jugar con ellos. Cuando esto sucede, ya puedo dar por concluida la parte más difícil del proceso y ahora sólo tengo que enseñarles lo que me interese, casi como si se tratara de un perro. Yo utilizo dos métodos diferentes: uno de ellos consiste en aprovechar los comportamientos que hacen de forma natural y premiarlos, como por ejemplo, cuando están callados y tranquilos o cuando vuelven solos a su habitáculo; y el otro método que utilizo es el de hacerles seguir el premio para guiarlos hacia la báscula, hacerles sentarse, tumbarse, etc. Una vez que he conseguido que realicen estas acciones básicas, intento dedicar algo de tiempo a hacer que se tumben y acariciarles, o incluso a masajearles con el puño como si se tratase del transductor de un ecógrafo. Con todo esto he podido conseguir hacerles curas, quitarles puntos de sutura, administrarles medicamentos tanto orales como inyectables y pesarles sin necesidad de pelearme con ellos o sedarlos.

Espero que mi experiencia os haya resultado interesante y aprovecho para saludar a todos los compañeros cuidadores de los distintos centros. También quiero aprovechar para dar las gracias a Paloma García por contar conmigo para escribir este artículo y a Cristina Pastor (Responsable del Servicio de Cirugía Experimental del CIBA) por valorar mi trabajo con los cerditos.

AL CUI
DADO
CUIDADO

International Product Supplies Limited



Feeding the Innovations of Modern Research

- European Manufacture
- Used & Trusted in Facilities Worldwide
- Fast Flexible Lead Times
- Nutritional Expertise & Advice
- Traceability
- Quality Assurance
- Prompt Delivery
- Modern Technology

TestDiet® Europe

- DIO High Fat Range
 - Fenbendazole
 - Doxycycline
 - Helicobacter
 - AIN Series
 - Tamoxifen
- www.testdiet.com



LabDiet

- All Species
- Meal
- Autoclavable
- Irradiated
- Extruded
- GLP

www.labdiet.com



Also available to order
in Spain and Portugal
from IPS distributor:

Sodispan Research S.L.

C/ Isla de Tavira, 14
28035 Madrid, Spain
Phone: +34 629159613
Facsimile: +34 914593962
Email: sodispan@sodispan.com

Seguridad en la utilización de escaleras de mano

Jesús Martínez Palacio y Carmen García Ortiz

Técnicos en Prevención de Riesgos Laborales

Es común en nuestras instalaciones utilizar escaleras para salvar pequeñas alturas (p. ej., manejo de racks ventilados), alcanzar elementos almacenados (p. ej., en estanterías) o realizar pequeñas operaciones de mantenimiento. Con este artículo pretendemos comentar unas normas básicas para el uso seguro de estos elementos.

Escaleras portátiles

Las normas en el empleo de las escaleras de mano son sencillas, ya que el uso de las escaleras también es muy simple y quizás por este motivo existen una gran cantidad de accidentes graves debidos a la mala utilización.

Estadísticamente, las personas que se caen al bajar son el doble de las que se caen al subir. La causa principal de las caídas depende del tipo de escalera. En escaleras rectas y escaleras de extensión, la causa principal es el deslizamiento de la base de la misma, mientras que en escaleras que se sostienen solas y escaleras de tijera la causa principal es el irse de lado.

Muchos de los trabajadores sufren lesiones en la espalda al trasladar o colocar la escalera.

Definición

La escalera manual es un aparato portátil formado por dos piezas paralelas o ligeramente convergentes unidas a intervalos por travesaños y que sirve para subir o bajar una persona de un nivel a otro.

Tipos y modelos de escaleras

- Escalera simple de un tramo: escalera portátil no autosoportada y no ajustable en longitud, compuesta por dos largueros.

- Escalera doble de tijera: la unión de las secciones se realiza mediante un dispositivo metálico de articulación que permite su plegado.
- Escalera extensible: escalera compuesta por dos simples superpuestas, cuya longitud varía por desplazamientos relativos de un tramo sobre otro. Pueden ser mecánicas (cable) o manuales.
- Pata de elefante: dispositivo pequeño, normalmente de uno o dos peldaños, con la posibilidad de desplazarlo rodando cuando está libre de carga. Suele alcanzar unos 48 cm de altura (ver Figura 1).
- Tarimas: escaleras pequeñas de 2-3 peldaños que no suelen superar el metro de altura.

Estas dos últimas suelen ser las más comunes en nuestras instalaciones



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- La pata de elefante dispone de ruedas soportadas por un muelle en la base, de manera que al cargar un peso sobre ella las ruedas se retraen y queda apoyada sobre la base.

Riesgos

Los riesgos fundamentales son:

- Caídas: se consideran caídas de altura cuando se sobrepasan los 1.80 m de altura.
- Caída de objetos sobre otras personas (ver Figura 2).

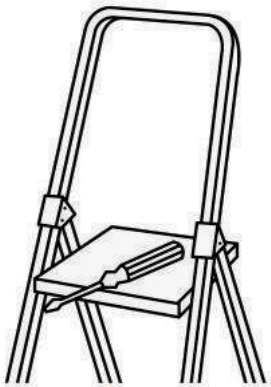


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Atención a los objetos que se dejan en las escaleras o al manejar los elementos en altura (imagen tomada de INSHT, Notas prácticas: Utilización de escaleras manuales, 2000).

- Atrapamientos en escaleras dobles o plegables.
- Lesiones al desplazar la escalera.
- Golpes durante el traslado a otros trabajadores (ver Figura 3).

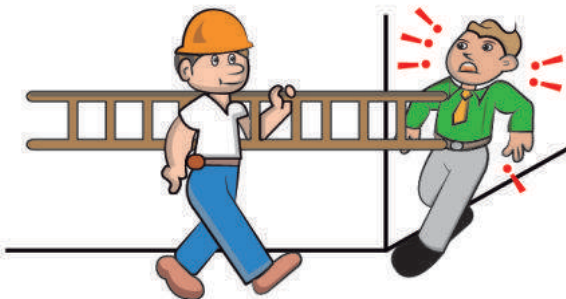


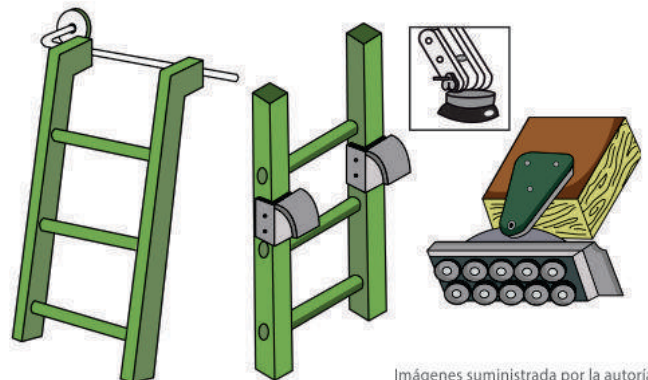
Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- El modo correcto de desplazar la escalera es inclinada hacia abajo (imagen tomada de INSHT, NTP: 239. Escaleras manuales, 1989).

Medidas generales de uso de las escaleras portátiles

- Los escalones, listones y travesaños deben ser paralelos y estar nivelados y espaciados parejamente.
- Los escalones y travesaños de las escaleras de metal deben estar ranurados o ser rugosos para reducir al mínimo las posibilidades de deslizamiento.

- Escaleras de madera, largueros de una sola pieza y peldaños ensamblados no se pueden pintar con pintura que pueda ocultar los defectos; sí se pueden pintar con barniz transparente.
- No superar alturas mayores a 5 m.
- El ascenso y descenso se realiza de frente a la escalera.
- Las piezas de la escalera deben ser lisas para impedir que ocasionen perforaciones, heridas o que la ropa quede prensada.
- Mantener despejada el área alrededor de la parte de arriba y la parte de abajo de la escalera. En pasadizos, puertas o cualquier lugar con tráfico asegurar la escalera o poner barreras alrededor del área.
- No situar la escalera detrás de una puerta que previamente no se ha cerrado, podría abrirse accidentalmente.
- No situar la escalera en un lugar de paso para evitar cualquier riesgo de colisión con peatones o vehículos. Si fuera necesario, balizarla o situar una persona que avise de la circunstancia.
- No superar los límites de peso establecidos.
- Comprobar la fijación antideslizante de las patas y los ganchos de la parte superior (ver Figura 4).



Imágenes suministrada por la autoría

Figura 4.- Ganchos para anclaje superior y bases antideslizantes en las patas de apoyo. Es muy común que se pierdan y eso inutiliza la escalera (imagen tomada de INSHT, NTP: 239. Escaleras manuales, 1989).

Medidas preventivas

- Todas las escaleras portátiles deben estar señalizadas de forma obligatoria con la marca CE. En caso contrario, no se deben utilizar.
- Las escaleras disponen de instrucciones del fabricante, en las que se indica: extensión máxima, carga, forma de uso y condiciones de seguridad.
- Si la escalera presenta alguna deficiencia o defecto, se debe informar automáticamente al encargado y dejar la escalera en el almacén para su posterior revisión. La escalera se debe señalar con un cartel informativo de "escalera pendiente de revisión (prohibición de uso)". Ésta debe ser reparada por personal especializado o retirada definitivamente.

Situación del pie de la escalera

- Las superficies deben ser planas, horizontales, resistentes y no deslizantes. La ausencia de cualquiera de estas condiciones puede provocar graves accidentes.
- No se deben situar las escaleras sobre elementos inestables o móviles (cajas, bidones, planchas, etc.).
- Como medida excepcional se puede equilibrar una escalera sobre un suelo desnivelado a base de prolongaciones sólidas con collar de fijación.

Inclinación de la escalera

La inclinación de la escalera debe ser tal que la distancia del pie a la vertical pasando por el vértice esté comprendida entre un cuarto y un tercio de su longitud, correspondiendo a una inclinación comprendida entre 75.5° y 70.5° (ver Figura 5).

Sobrepasado del punto de apoyo en la escalera

La escalera debe sobrepasar al menos en 1 m el punto de apoyo superior (ver Figura 6).

Equipos de Protección Individual (EPI)

- Para subir a una escalera se debe llevar un calzado que sujete bien los pies.

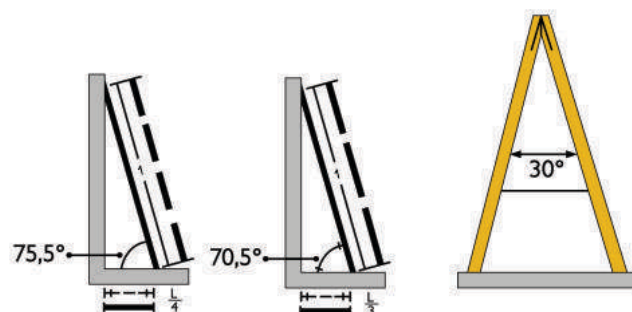


Imagen suministrada por la autoría

Figura 5.- Modo correcto de apoyar y colocar las escaleras. Separar las escaleras de la pared entre un cuarto y un tercio de su longitud total (imagen tomada de INSHT, NTP: 239. Escaleras manuales, 1989).

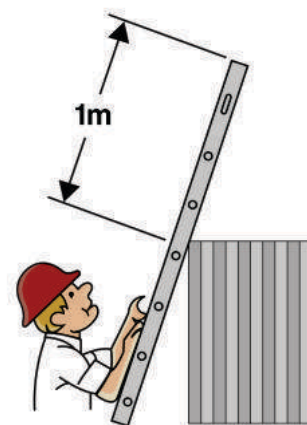


Imagen suministrada por la autoría

Figura 6.- Siempre debe quedar al menos un metro de escalera desde el punto de apoyo (imagen tomada de INSHT, NTP: 239. Escaleras manuales, 1989).

- Las suelas deben estar limpias de grasa, aceite u otros materiales deslizantes, pues a su vez ensucian los escalones de la propia escalera. Recomendable calzado de protección EN 346.
- Disponer de arnés de seguridad con elementos de amarre.

Cargas máximas de las escaleras (ver según fabricante)

- Madera: la carga máxima soportable recomendada es aproximadamente de 95 kg. La carga máxima a transportar es de 25 kg.
- Metálica: la carga máxima recomendada es aproximadamente de 150 kg e igualmente la carga máxima a llevar por el trabajador es de 25 kg.

- Pata de elefante: pueden resistir hasta 150 kg (ver Figura 7).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 7.- Ejemplo de carga máxima en una pata de elefante de nuestra instalación.

Ascenso - descenso

El ascenso y descenso de la escalera debe hacerse siempre de cara a la misma teniendo libres las manos y utilizándolas para subir o bajar los escalones. Cualquier objeto a transportar debe llevarse colgado al cuerpo o cintura.

Mala utilización de las escaleras

Las escaleras no se deben utilizar para otros fines distintos de aquellos para los que han sido construidas. No se deben utilizar las escaleras dobles como simples. No se deben utilizar en posición horizontal para servir de puentes, pasarelas o plataformas. No se deben utilizar para servir de soportes a un andamiaje. No se deben balancear para desplazarlas.

BIBLIOGRAFÍA

- Real Decreto 2177/2004, de 12 de noviembre, por el que se modifica el Real Decreto 1215/1997, de 18 de julio, por el que se establecen las disposiciones mínimas de seguridad y salud para la utilización por los trabajadores de los equipos de trabajo, en materia de trabajos temporales en altura.
- NTP 202: Sobre el riesgo de caída de personas a distinto nivel. INSHT.
- NTP 239: Escalera manuales. INSHT



Foto: shutterstock



THE BRAIN FOR YOUR CAGES

Living in the Digital Cage.
Technology to transform cage data collection into improved animal care!

DVC[™] is a Tecniplast trademark.



Find more on www.tecniplast.it

Refrigeración del semen canino mediante utilización de yema de huevo

M. Batista y A. Zagorskaia

Unidad de Reproducción y Obstetricia, Instituto Universitario de Investigaciones Biomédicas y Sanitarias, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Nuestro estudio pretendía comparar el efecto de tres diluyentes seminales con diferentes concentraciones de yema de huevo, sobre la viabilidad de espermatozoides caninos refrigerados a 4°C durante 96 horas. Para ello, se utilizaron 6 machos, de raza Beagle, sexualmente activos, con un peso medio de 16.8 kg y con edades que oscilaban entre los 14 meses y los 5 años. Los animales pertenecían a propietarios particulares, si bien tanto la alimentación, como el plan sanitario y manejo de los animales era prácticamente similar. Se obtuvieron 10 eyaculados (2 eyaculados por perro, con al menos 2 semanas de separación entre ellos) mediante el método de manipulación digital (1), recogiendo la segunda y la tercera fracción espermática de cada eyaculado.

Los parámetros evaluados fueron: volumen eyaculado, concentración/ml, concentración total, motilidad basal, motilidad total, motilidad progresiva e integridad del acrosoma. El volumen eyaculado se determinó mediante lectura directa del tubo graduado, mientras la concentración espermática se obtuvo mediante la utilización de un fotómetro calibrado. La motilidad total y progresiva se valoraba depositando 40 µl de cada muestra de semen sin diluir entre un portaobjetos y un cubreobjetos, ambos temperados a 37°C, y se observaba al microscopio a 20x (ver Figura 1), calculando de manera subjetiva el porcentaje total de espermatozoides con movimiento y, dentro de éstos, los que se movían de manera rectilínea para la motilidad progresiva (2). Finalmente, la integridad del acrosoma se determinaba tras tinción de una muestra con el colorante Spermac® y valorando la muestra en un microscopio óptico con objetivo de inmersión (ver Figuras 2 y 3), hasta valorar un mínimo de 100 espermatozoides (3).

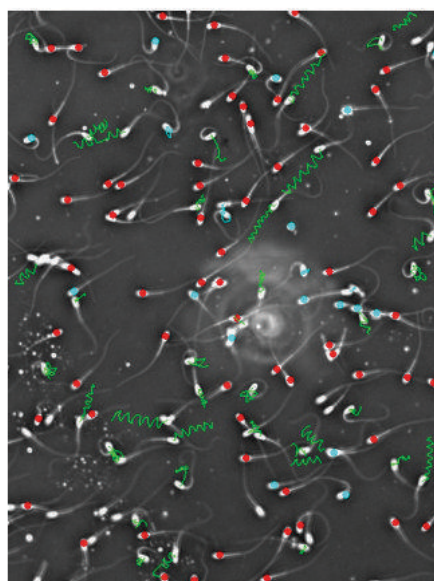


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Valoración de la motilidad espermática. Colores distintos representan espermatozoides con diferente motilidad.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Detalle de morfoanomalía espermática: espermatozoide con cola enrollada.

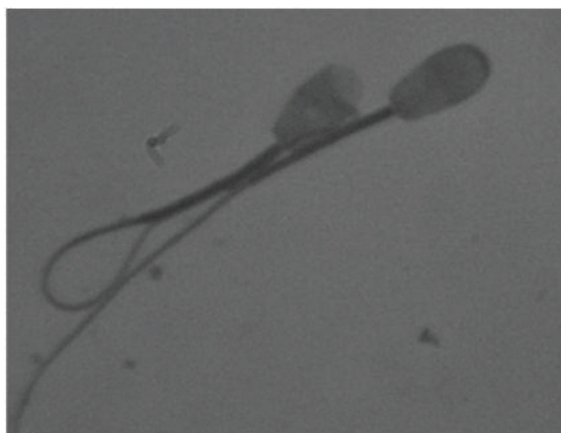


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Espermatozoides con acrosoma normal (derecha) y acrosoma desprendido (izquierda).

Una vez definidas las características en fresco del semen, a cada eyaculado se le sometió al mismo procesado: centrifugación suave durante 10 minutos a 1200 revoluciones por minuto, para posteriormente retirar el sobrenadante y obtener la fracción rica en espermatozoides. En ese momento, cada eyaculado se dividió en tres alícuotas y se distribuyó de manera uniforme en los tres medios de dilución, hasta obtener una concentración espermática total entre $100-150 \times 10^6$ espermatozoides/ml. La composición (Tris, ácido cítrico, glucosa y antibióticos) de los tres diluyentes fue similar, a excepción de la proporción de yema de huevo, que presentaba una concentración total de 5, 10 y 20%, respectivamente. Todas las muestras se refrigeraron a 4°C y se evaluó la motilidad total y progresiva a las 24, 48, 72 y 96 horas y la integridad del acrosoma a las 48 y 96 horas.

Los perros que participaron en el experimento como donantes respondieron correctamente al método de manipulación digital para la obtención de semen. Aunque las características iniciales del semen fueron muy similares entre animales, sí se detectó una diferencia sustancial en la evolución de la calidad seminal entre los diferentes individuos. Del mismo modo, los mejores valores de calidad seminal se obtuvieron en aquellos diluyentes con una mayor concentración de yema de huevo, presentando valores óptimos incluso hasta 72 horas tras la refrigeración. No obstante, durante las primeras 24 horas de conservación, la calidad seminal resultó prácticamente similar en los tres diluyentes evaluados.

¿Y tú qué opinas?

¿Por qué hay diferencia de calidad seminal entre ejemplares, si partimos de un semen muy similar inmediatamente tras la recogida?

¿Podría explicarse la razón por la que el diluyente con mayor concentración de yema de huevo es el que mejor resultado aporta?

SOLUCIÓN

En la preservación del semen, bien sea a corto plazo (refrigeración) o a largo plazo (crioconservación en nitrógeno líquido), existen numerosos factores que pueden influir sobre la viabilidad seminal. Existe un acuerdo general sobre el efecto del donante en la calidad seminal; es decir, el semen de los individuos aunque aparentemente presente características similares inmediatamente tras su recogida, puede comportarse de diferente forma tras su procesado. Partiendo de la base que el procesado y la evaluación seminal siempre sean de la misma manera, parece evidente que las diferentes subpoblaciones espermáticas que existen en un eyaculado van a responder de diferente manera, en función del manejo a que sean sometidas (4). Se ha confirmado que la mayor o menor proporción de estas subpoblaciones está directamente relacionada con una mayor viabilidad y longevidad del semen preservado. De esta manera, cuando un semen es refrigerado (4°C), está siendo sometido a una agresión física y química, y va a responder de diferente manera (va a persistir más o menos tiempo, con mayor o menor capacidad fecundante) en función de la proporción de las diferentes subpoblaciones. En diferentes especies animales (porcino, equino y bovino), a los donantes se les identifica como *good freezers* o *bad freezers*; es decir, animales cuyo semen en fresco es similar con estándares altos de calidad, pero que tras ser sometido a refrigeración o congelación su calidad puede permanecer en niveles altos o, por el contrario, disminuir. Por esta razón, en numerosos experimentos, si se quiere obviar la influencia del individuo sobre la calidad seminal se opta, una vez realizada la primera valoración inicial, por realizar un *pool* de eyaculados de los diferentes donantes, para bloquear la influencia de esta variabilidad individual sobre el procedimiento a validar. Parece

¿Y tú qué opinas?

evidente que, en aquellas experiencias que pretendan poner a punto una técnica, es necesario realizar un *pool* de eyaculados de diferentes donantes, pero también es necesario valorar la viabilidad individual, sobre todo, cuando el semen a preservar tenga que ser específicamente de uno u otro donante.

Respecto a la utilización de la yema de huevo para refrigerar el semen, la mayoría de los autores muestran su acuerdo sobre la capacidad protectora que la yema de huevo tiene frente al *shock* frío que representa el proceso de refrigeración (5,6). En el caso del semen canino, si tras la eyaculación no se adiciona ningún compuesto, éste se mantiene viable sólo durante 4-6 horas a temperaturas entre 25-35°C, y si se somete a refrigeración sin ningún diluyente protector, se produce la muerte del semen en menos de 1 hora tras alcanzar los 4-5°C. La yema de huevo adiciona estabilidad a las membranas espermáticas, dotando de resistencia a los espermatozoides y preservando su capacidad fertilizante durante un tiempo más o menos prolongado. Una baja concentración de yema de huevo (5-10%) puede preservar la calidad seminal durante un corto periodo de tiempo (24-36 horas), pero tras ese periodo la calidad seminal (sobre todo la motilidad espermática) desciende a niveles subfértiles. Una concentración de yema de huevo entre el 15-20% (1,6) permite no sólo estabilizar la membrana espermática y la integridad del acrosoma, sino mantener la capacidad motora del espermatozoide durante 48-72 horas. Concentraciones más elevadas de yema de huevo (>25%) en los medios de dilución no han mostrado una mayor eficacia para preservar el semen, además de poder generar ciertos efectos deletéreos sobre la viabilidad espermática. Por tanto, en función de cuánto tiempo necesite ser preservado el semen, podremos optar por utilizar una u otra concentración de yema de huevo en el diluyente, si bien parece evidente que la concentración con un 20% es la más aplicativa y funcional.

3. Alamo D., Batista M., González F., et al. *Cryopreservation of semen in the dog: use of ultra-freezers of -152 °C as a viable alternative to liquid nitrogen*. *Theriogenology* 2005, 63(1):72-82.
4. Batista M., Santana M., Alamo D., et al. *Effects of incubation temperature and semen pooling on the viability of fresh, chilled and freeze-thawed canine semen samples*. *Reproduction in Domestic Animals* 2012, 47(6):1049-55.
5. Verstegen J. P., Onclin K., and Iguer-Ouada, M. *Long-term motility and fertility conservation of chilled canine semen using egg yolk added Tris-glucose extender: in vitro and in vivo studies*. *Theriogenology* 2005, 64(3):720-33.
6. Goericke-Pesch S., Klaus D., Failing K., et al. *Longevity of chilled canine semen comparing different extenders*. *Animal Reproduction Science* 2012, 135(1-4):97-105.

BIBLIOGRAFÍA

1. Stornelli R. and Sota L. *Congelación de semen en caninos*. PV Argos 2008, 39.
2. Root Kustritz M.V. *The value of canine semen evaluation for practitioners*. *Theriogenology* 2007, 68(3):329-37.



Entrevista póstuma: César Eguiluz Fernández De Valderrama

*Veterinario.
Máster en Experimentación y Protección Animal.
Técnico Superior Especializado del Centro Nacional
de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III*

*Fue un compañero en el que siempre encontré apoyo.
"Gracias a él muchos aprendimos a hacer una necropsia en
ratón siguiendo un protocolo sistemático y ordenado"*

Miriam Pérez

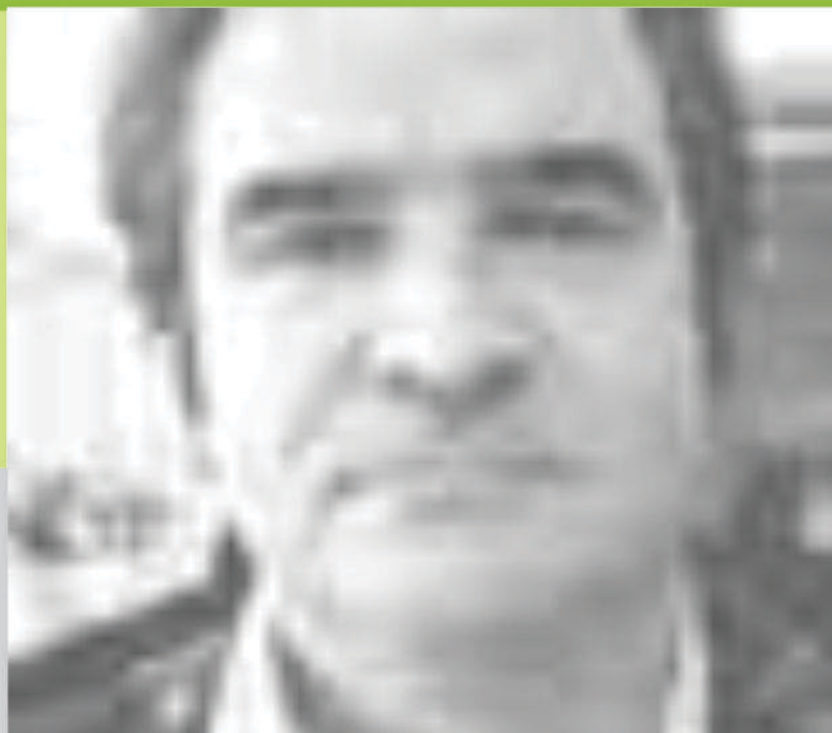
*"Como compañero que fué del primer máster que se realizó en
la Facultad de Veterinaria de Madrid, siempre se podía contar
con él para todo. Nunca ponía ninguna pega a nada y siempre
estaba dispuesto a ayudar. Profesionalmente siempre
trataba de estar al día en lo referente a animales de
laboratorio y daba gusto encontrarnos en los cursos,
congresos, etc., pues era muy fiel a sus amigos y siempre tenía
una sonrisa. Lo pasamos muy bien con él, también, en los
momentos de ocio. Ha formado parte de nuestra vida y no le
olvidaremos, aunque se nos ha ido demasiado pronto. Un
beso allí donde estés."*

Pilar Hernández

Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL) ¿Cuándo y cómo llegaste a nuestro colectivo?

En el año 1989 empecé a cursar el primer Máster sobre Experimentación y Protección Animal que se celebró en la Universidad Complutense de Madrid, dirigido por el Profesor Juan Carlos Illera. Por mi formación veterinaria en Méjico, mi actividad en aquel momento era la clínica veterinaria de pequeños animales; de hecho la he seguido compaginando estos años, pero siempre me había interesado la Microbiología y la investigación.

Como te comentaba, vi anunciado el Máster no recuerdo dónde, me llamó mucho la atención, pasé la prueba de selección y durante dos años estuve compartiendo aula con otros miembros



de SECAL, como Antonio Martínez, el actual Presidente, Pilar Hernández, Pablo González, Elena Jiménez, Álvaro García o Pepe Orellana.

De allí surgieron muchas anécdotas, aunque sobre la que nos atañe aquí es que antes de terminarlo se celebró el primer congreso de SECAL en Madrid y a los del Máster nos hicieron un precio especial, con lo que nos apuntamos todos para ver en qué consistía eso. Recuerdo que Pepe y yo echamos nuestro CV en una bolsa de trabajo que se había preparado allí. El CV nos lo recogieron Carmina Fernández y Gloria Lete. Qué cosas.

Para empezar, ¿cuál ha sido el rol del animal de experimentación en tu desempeño profesional?

Debido a que me había formado en la universidad en temas relacionados con la microbiología y había continuado con ello en la clínica veterinaria de pequeños animales, no me fue muy complicado continuar con animales todavía más pequeños y, al poco tiempo, entré a trabajar en el Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III, en el animalario que estaba dirigido entonces por Josefa Pérez que me ayudó mucho y teniendo de compañero todos estos años a mi amigo Enrique Viguera.

En este número hemos publicado un artículo en el que participaste activamente. ¿Cómo ha sido esta experiencia?

Siempre que hay que trabajar en grupo surgen discrepancias en cuanto a criterios o puntos de vista distintos. No obstante, esto, además de enriquecedor, es desafiante y te permite afrontar retos que en muchas ocasiones es difícil encarar en solitario.

Inicialmente, el artículo de "Recomendaciones para Controles Microbiológicos Ambientales y de Agua en un Animalario" nos supuso un reto, ya que específicamente para animalarios no hay ninguna publicación al respecto.

Después de hacer una encuesta a través de la Sociedad, consultar toda la bibliografía posible sobre el tema que se aplica en otros campos y la experiencia personal de los componentes del Grupo de Trabajo, pudimos llegar a un acuerdo para dar unas recomendaciones que son las que aparecen en el artículo.

Por otra parte, desde la Junta de Gobierno de la Secal, nos propusieron hacer la presentación del Artículo en la VI Jornada celebrada en Barcelona el día 20 de noviembre del 2014. Los comentarios, al finalizar la misma, fueron muy positivos.

¿Qué tienes en este momento como objetivo en tu carrera profesional?

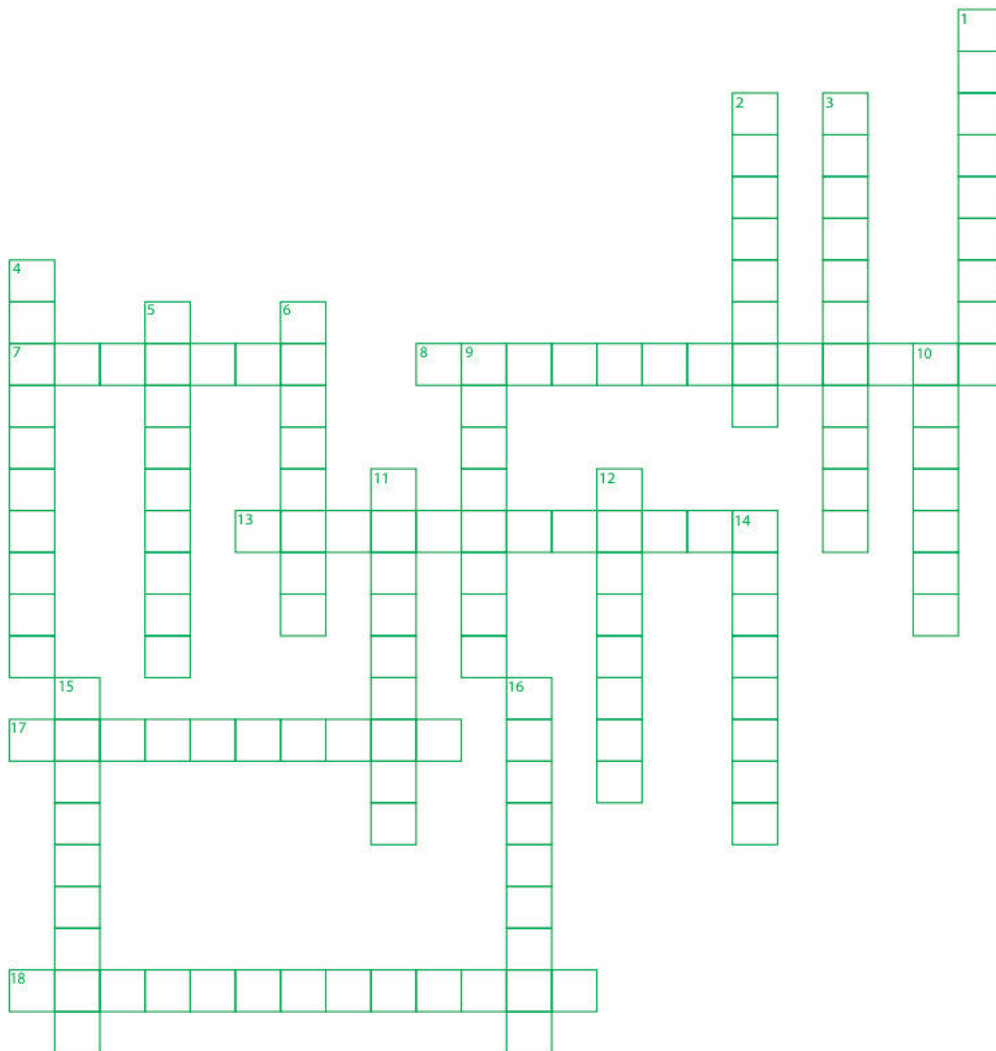
Pues fíjate como son las cosas, aparte de mi interés en continuar con las colaboraciones con la SECAL, después de todo este tiempo parece que he vuelto al principio.

He estado unos cuantos años preparando mi tesis doctoral con el Profesor Illera y, por fin, la he presentado en la Universidad Complutense. Versa sobre un estudio comparativo de la eficiencia de centinelas inmunodeprimidos frente a inmunocompetentes en el control sanitario de ratones alojados en estanterías ventiladas, y me toca defenderla en breve. No es porque sea la mía pero me gustaría que fuera muy interesante para nuestros animalarios (sonrisa).

Las respuestas de esta entrevista fueron contestadas por JOSE MARÍA ORELLANA y LUÍS PARRA como homenaje póstumo a **César Eguiluz Fernández De Valderrama.**



Love Me Tender. Autor: César Eguiluz Fernández de Valderrama
Seleccionada en la 7ª edición del Certamen Nacional de Fotografía Científica de la Fundación Española para la Ciencia y Tecnología (FECYT)
http://www.fotciencia.es/Resources/documentos/Catalogo_FOTCIENCIA7.pdf



Horizontal

7. Animal libre de gérmenes.
8. Técnica de preservación de óvulos que consiste en enfriarlos lo suficientemente rápido para que la transformación de líquido a sólido sea instantánea, sin dañarlos.
13. Conducta repetitiva, con patrones fijos, sin ningún propósito obvio.
17. Son cinco y están relacionadas con el bienestar animal.
18. Conjunto de medidas, equipos e instalaciones que permiten el trabajo seguro con agentes biológicos.

Vertical

1. Capacidad del cerebro para percibir, procesar y almacenar la información.
2. Establecimiento que recoge, almacena y distribuye material biológico y los datos asociados a dicho material.
3. Capacidad que poseen las células madre de un tejido para producir tipos celulares diferenciados de otro órgano o tejido.
4. Separación de los animales recién llegados de aquellos previamente alojados en las instalaciones, en tanto se haya determinado el estado de salud y la condición microbiológica de los primeros.
5. Eliminación de la sensación de dolor mediante el bloqueo artificial de las vías de transmisión del mismo y/o de los mediadores dolorosos, o por desconexión de los centros del dolor.
6. Hormona que se libera como respuesta al estrés.
9. Disminución transitoria o permanente del riego sanguíneo de una parte del organismo.
10. Variedad de analgésicos en el manejo del dolor moderado a severo.
11. Animal usado para la detección de focos enzoóticos, estableciendo en ellos la presencia del virus para monitorizar la actividad viral durante los cambios temporales y espaciales en un área determinada.
12. Alelo que codifica el fenotipo más común en la naturaleza (voz inglesa).
14. Equipo de bioseguridad que provee una barrera protectora física entre el técnico y el proceso que realiza, a la vez que crea un ambiente confinado, estéril y aséptico.
15. Dilatación de las pupilas.
16. Cualquier estrategia que tenga como resultado el uso de un menor número de animales para obtener datos fiables.



Powering your research development



Profesionales al servicio de la investigación

Servicios integrales para Animalarios

Externalización de servicios de Animalarios

Formación de personal

Diseño de Instalaciones

Alquiler y gestión de Instalaciones

Consultoría y Asesoramiento



www.vivotecnia-ms.com



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



Positive Discovery

Welcome to a world in which every research model is designed to enhance a life – a world in which animal care is of paramount importance and our customers are at the heart of everything we do at Envigo.

Working together with our customers, Envigo is creating the foundations to a world in which human lives are improved and scientific knowledge is advanced on a daily basis.

Discover your own positive outcomes at Envigo today.

envigo.com

