

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

ANIMALES DE LABORATORIO

Primavera 2017. Número 73



Medidas correctivas
en procedimientos severos.

El intercambio de cepas de
de ratón sin transporte de
animales vivos: "embriones,
esperma, y epidídimos".

Refinamiento en los muestreos
de sangre seriados en rata
con el uso del *Pinport*.

Entrevista
Lara Sedó Cabezón.



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio



At Envigo, the positives are
in more than just our name

Introducing SHrN[®]

The most immunodeficient hairless model available.

With a level of immunodeficiency that goes beyond other traditional hairless SCID mice and with fewer dendritic cells than all triple-deficient models, the SHrN brings a new option to oncology and immunology researchers. And, with no need for shaving, you'll save time and effort.

Download Advances in immunodeficient models
white paper at envigo.com/shrn-paper



envigo.com

GRUPO EDITOR

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

David Mayo
publicidad.revista@secal.es

FOTO DE PORTADA

Shutterstock

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@ciemmat.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@igtp.cat

Junta de Gobierno

PRESIDENCIA

Teresa Rodrigo Calduch (2015-2019)

VICEPRESIDENCIA

Isabel Blanco Gutiérrez (2017-2021)

SECRETARÍA

Clara Muñoz Mediavilla (2015-2019)

VICESECRETARÍA

Julia María Samos Juárez (2017-2021)

TESORERÍA

David Muñoz Valverde (2015-2019)

VICETESORERÍA

Viviana Bisbal Velasco (2017-2021)

VOCALÍAS

Helena Paradell Trius (2015-2019)
Hernán Serna Duque (2015-2019)
Sergi Vila Bellmunt (2015-2019)
José Luis Martín Barrasa (2015-2019)
Elena Hevia Hernández (2017-2021)
John Sparrowe-Gil Del Real (2017-2021)
David Mayo Lopez (2017-2021)
María Jesús Molina Cimadevila (2017-2021)

SOCIOS BENEFACTORES:

CHARLES RIVER LABORATORIES ESPAÑA, S.A.
PANLAB - HARVARD APPARATUS, S.L.U.
ENVIGO RMS SPAIN, S.L.
GRANJAS SAN BERNARDO
JANVIER LABS
BIOSIS
STERIS IBERIA, S.A.
DINOX SL
ANADE
VESTILAB C.R.C., S.L.U.
NORAY BIOINFORMATICS, S.L.U.
ANTONIO MATACHANA S.A.
STERILTECH, S.L.
DYNAMIMED, S.L.
RETTENMAIER IBERICA, S.L. Y CIA SCOM
VIVOTECNIA RESEARCH
ZONOLAB GmbH
ANIMALARIA FORMACIÓN y GESTIÓN, S.L.
SODISPAN RESEARCH, S.L.
COLOFI, DE VETERINARIOS DE CADIZ
TEMINOX C.B.
CENTRO DE ESTUDIOS BIOSANITARIOS, S.L.
FLOVIGAS, S.A.

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*



Con la colaboración de SECAL



Animalaria

Formación y Gestión S.L.

www.animalaria.org Tel. 699921930

EDITORIAL

9 ACTUALIDAD

- Caracterizado el proteoma sináptico del pez cebra.
- Descubierta un gen que protege de las malformaciones causadas por la diabetes materna durante la gestación.
- Una inmunoterapia combinada frena el crecimiento del tumor de pulmón en animales.
- X Aniversario del Nuevo Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón (CCMIJU).

14 ARTÍCULOS

- Medidas correctivas en procedimientos severos.
- El intercambio de cepas de ratón sin transporte de animales vivos: "embriones, esperma, y epidídimos".
- Percepción del usuario del animal de laboratorio sobre analgesia, anestesia y eutanasia en roedores.

33 TÉCNICAS

- Refinamiento en los muestreos de sangre seriados en rata con el uso del *Pinport*.

38 ÉTICA Y LEGISLACIÓN

- X Encuentro de la Red de Comités de Ética de Universidades y Organismos Públicos de Investigación.

42 PANORAMA

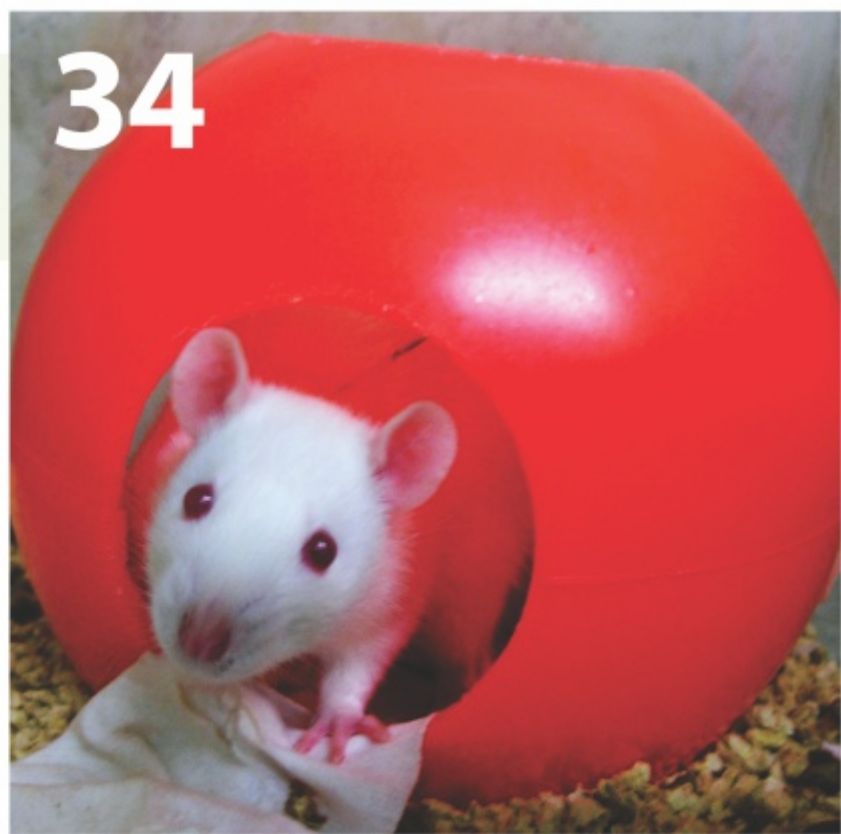
- Aspectos importantes en el diseño de un animalario de vertebrados acuáticos.

49 FACTOR HUMANO

- No te esfuerzas como deberías.

51 ENTREVISTA

- Lara Sedó Cabezón.





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**



BIOQUELL
Bio-decontamination solutions



- 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**



EDITORIAL

Norte asumido

Los cambios que se hacen en la marcha de los proyectos son parte de la evolución propia de los mismos.

Unos de nuestros principales objetivos de la dirección de la revista era conseguir a través de nuestra publicación trimestral, una mayor confluencia de nuestros lectores a las dos plataformas, la impresa y la digital, creando para esto una revista más "colorida" y dinámica bajo un método monográfico. Sentimos haber alcanzado ya este norte y creemos que es hora de dar el siguiente paso a nuevas coordenadas en la divulgación científica.

A la actual dirección de la revista le gusta andar a la grupa de los cambios y las innovaciones, y es por eso que a partir de ahora comenzaremos a darle más protagonismo a la Secciones que componen nuestra revista, añadiendo incluso más, y dejando atrás el formato monográfico, sin menoscabo de la profundidad y la seriedad impregnadas en nuestros contenidos.

Nuestros lectores podrán apreciar, desde hoy y poco a poco, una serie de nuevas Secciones que, junto con las que ya tenemos, harán que la publicación sea más amena, variada y ágil, pero sobre todo de gran utilidad en nuestro día a día.

Podemos decir que al dar este paso, en la Revista Animales de Laboratorio de la SECAL quedan ensamblados, como moléculas de un mismo átomo, el Grupo Editor, los Responsables de Secciones y nuestros lectores.

Os esperamos en nuestras páginas.

Dirección Revista Secal



Foto: shutterstock

aco

An **Allentown** Company

ACO Allentown es el nuevo nombre de un equipo profesional líder y con décadas de experiencia en el diseño, implantación y mantenimiento de soluciones de lavado de equipos utilizados en los centros de investigación biomédica. Sodispan Research distribuye en España todos los sistemas ACO Allentown.



Lavabiberones



Lavajaulas



Lavaracks

Caracterizado el proteoma sináptico del pez cebra

Un grupo internacional de investigadores ha presentado la primera caracterización de las proteínas que se expresan en las conexiones neuronales del pez cebra, animal modelo para el estudio del cerebro.

Las sinapsis del cerebro son el punto de comunicación y de transmisión de impulsos nerviosos entre neuronas. Determinan, por tanto, la organización de los circuitos neuronales, esenciales en la función global del sistema nervioso central.

En los últimos años, un gran número de estudios genéticos han identificado mutaciones en genes que se expresan en las sinapsis implicadas en enfermedades neurológicas y, especialmente, en trastornos como los del espectro autista, la esquizofrenia o la discapacidad intelectual. Estos trabajos han establecido la sinapsis como una estructura crítica en muchas patologías del cerebro, lo que ha dado lugar al concepto de sinaptopatías.

«El pez cebra (*Danio rerio*) es un modelo animal ampliamente usado en el estudio del sistema nervioso y de sus enfermedades, ya que presenta una gran homología con el cerebro humano.»

El pez cebra también se utiliza para el desarrollo de nuevos fármacos orientados al tratamiento de los desórdenes del cerebro, para los que, en su mayor parte, no disponemos de terapias realmente efectivas.

Investigadores del Instituto de Investigación Sant Pau, la Universidad Autónoma de Barcelona y la Universidad de Edimburgo, dirigidos por el investigador Alex Bayés, han presentado en *Nature Communications* el primer estudio del proteoma sináptico del pez cebra.

Se trata de una herramienta esencial para futuros trabajos que utilicen este modelo animal para caracterizar la patofisiología de las sinaptopatías, así como para el desarrollo de fármacos dirigidos a tratarlas.

Esta primera caracterización del proteoma sináptico de un vertebrado inferior ha permitido estudiar también la evolución comparada con mamíferos. El análisis muestra cómo la evolución de los vertebrados ha favorecido el incremento en la complejidad del proteoma sináptico. Una observación que los investigadores califican de inesperada y muy interesante.

“Disponer de más proteínas sinápticas habría permitido aumentar el número de procesos moleculares que se producen así como la diversidad de tipos sinápticos. Ya que la sinapsis es la unidad cognitiva básica del cerebro, la expansión de sus componentes podría haber contribuido a la diversidad de comportamientos y capacidades intelectuales de los vertebrados”, concluye Bayés.



Foto: shutterstock

BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Caracterizado-el-proteoma-sinaptico-del-peze-cebra>
- Bayés Á., Collins M.O., Reig-Viader R., et al. **Evolution of complexity in the zebrafish synapse proteome.** Nat. Commun. 2017, 2(8):14613. DOI: 10.1038/ncomms14613.

Descubierto un gen que protege de las malformaciones causadas por la diabetes materna durante la gestación

«Un equipo con investigadores del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) ha descubierto que un gen denominado *Alx3*, presente en los embriones durante el desarrollo intrauterino, actúa como sensor de los niveles de glucosa anormalmente elevados a causa de la diabetes de la madre gestante, y activa un programa genético de defensa para prevenir el daño celular que el exceso de glucosa podría producir.»

La deficiencia de este gen contribuye a la aparición de defectos del desarrollo embrionario en madres diabéticas.

El estudio, publicado en la revista *Scientific Reports*, ha sido efectuado por investigadores del Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols (centro mixto del CSIC y la Universidad Autónoma de Madrid) pertenecientes al Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), con la colaboración de investigadores del Instituto Cajal (CSIC).

“Se conoce desde hace años que la diabetes materna durante la gestación constituye un riesgo muy importante para la aparición de malformaciones del desarrollo embrionario y fetal, que afectan fundamentalmente a la formación del sistema nervioso y del corazón”, explica Mario Vallejo, director del estudio.

“Se piensa que ello es debido a que el incremento de los niveles de glucosa proveniente de la sangre materna da lugar a la producción excesiva de radicales libres en las células embrionarias, lo cual produce estrés oxidativo con el consiguiente daño y muerte celular”, añade.

Utilizando un modelo de diabetes materna en ratones, los investigadores han descubierto que *Alx3* se activa en las células embrionarias durante el desarrollo intrauterino tras detectar la presencia de concentraciones anormalmente elevadas de glucosa procedente de la sangre materna. “Como consecuencia de ello, se pone en marcha la síntesis de una proteína reguladora codificada por este gen, cuyo papel es estimular la actividad de un conjunto de genes diferentes responsables de la producción de enzimas que eliminan los radicales libres para hacer frente al estrés oxidativo”, detalla Vallejo.

Cuando *Alx3* se encuentra anormalmente inactivo, los genes que codifican estas enzimas no se estimulan, y como consecuencia, la incidencia y la gravedad de las malformaciones congénitas aumenta considerablemente. Además, los investigadores han descrito que el mecanismo por el que esta respuesta se pone en marcha incluye la estimulación de la producción de otro factor de transcripción denominado *Foxo1*, que también juega un papel importante en la defensa del organismo contra los radicales libres.

Por tanto, los investigadores han demostrado que *Alx3* es una pieza fundamental para la defensa de las células embrionarias contra el daño producido por el estrés oxidativo generado por la hiperglucemia de origen materno. Asimismo, han identificado la deficiencia de *Alx3* como un nuevo mecanismo molecular que contribuye a la aparición de defectos del desarrollo embrionario en madres diabéticas gestantes.



Foto: shutterstock

BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.csic.es/noticias-y-multimedia>
- García-Sanz P, Mirasierra M, Moratalla R, and Vallejo M. **Embryonic defence mechanisms against glucose-dependent oxidative stress require enhanced expression of *Alx3* to prevent malformations during diabetic pregnancy.** *Scientific Reports*. 2017, 7(1):389. DOI: 10.1038/s41598-017-00334-1.

Una inmunoterapia combinada frena el crecimiento del tumor de pulmón en animales

Un equipo de la Universidad de Navarra ha demostrado que el bloqueo combinado de las proteínas C5a y PD-1 inhibe el crecimiento del tumor de pulmón y previene las metástasis en modelos animales. El objetivo del trabajo se centra en superar la resistencia tumoral a la inmunoterapia del cáncer.

Científicos del Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA) de la Universidad de Navarra han desarrollado una técnica de inmunoterapia que mejora sustancialmente el tratamiento del cáncer de pulmón en animales. Los resultados se han publicado en la revista *Cancer Discovery*.

«La inmunoterapia, basada en estimular al sistema inmunitario para que reconozca y destruya las células tumorales, ha emergido como una potente herramienta para el tratamiento del cáncer de pulmón.»

Los anticuerpos monoclonales contra PD-1 –receptor implicado en la supresión de la actividad antitumoral de las células del sistema inmune– ya han sido aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos de EE.UU. (FDA, por sus siglas en inglés, *Food and Drug Administration*) y la Agencia Europea de Medicamentos para pacientes con el cáncer de pulmón más frecuente (el cáncer de pulmón de células no pequeñas metastásicas). “Sin embargo, esta inhibición no es capaz de revertir todos los mecanismos de resistencia y un alto porcentaje de pacientes (en torno al 70% y el 80%) no responde adecuadamente a este tratamiento. Por ello, es fundamental buscar terapias combinadas que bloqueen más de una vía inmunomoduladora, para mejorar la eficacia antitumoral de los tratamientos individuales anti-PD-1”, explica Rubén Pío, director del Programa de Tumores Sólidos y Biomarcadores del CIMA y director del estudio.

La estrategia reduce significativamente el crecimiento de los tumores de pulmón y su metástasis a hueso. El objetivo del trabajo se centra en superar la resistencia tumoral a la inmunoterapia del cáncer. Se sabe que la proteína C5a favorece la progresión del cáncer de pulmón mediante el reclutamiento de células

inmunosupresoras que contribuyen a la inhibición de la respuesta inmune antitumoral.

En este contexto, señala Daniel Ajona, investigador del CIMA y primer autor del trabajo, “nos planteamos la posibilidad de que la inhibición de esta proteína podría revertir este ambiente inmunosupresor, potenciando la eficacia de los tratamientos anti-PD-1 clínicamente aprobados. En nuestro laboratorio hemos administrado una combinación de fármacos anti-PD-1 y anti-C5a en diversos modelos preclínicos de cáncer de pulmón y hemos comprobado que esta estrategia reduce significativamente el crecimiento de los tumores de pulmón y su metástasis a hueso. La relevancia de nuestro estudio es que propone un novedoso abordaje terapéutico para pacientes con este tipo de tumor”.



Foto: shutterstock

BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Una-inmunoterapia-combinada-frena-el-crecimiento-del-tumor-de-pulmon-en-animales>
- Ajona D., Ortiz-Espinosa S., Moreno H., et al. **A Combined PD-1/C5a Blockade Synergistically Protects Against Lung Cancer Growth and Metastasis.** *Cancer Discovery* 2017. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-1184.

X Aniversario del Nuevo Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón

El Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón (CCMIJU) es una institución dedicada a la investigación aplicada, la formación y la transferencia de tecnología en el campo de la Cirugía de Mínima Invasión, y de la sanidad en general.

El nuevo Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón cumple hoy diez años apostando por actividades formativas, de investigación, de desarrollo e innovación de calidad.

Se celebran diez años marcados por el crecimiento de cursos de formación y de proyectos de I+D europeos, el impulso al nacimiento del Clúster Sociosanitario de Extremadura, la obtención de la acreditación de Buenas Prácticas de Laboratorio para la realización de ensayos preclínicos. Se ha puesto en marcha un Aula Formativa de Reproducción Asistida, la creación de una unidad de desarrollo de aplicaciones móviles, el reconocimiento del Centro como Infraestructura Científico-Técnica Singular (ICTS) en colaboración con el Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBERBBN), y la inclusión de un grupo de investigación en el Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV).

La Fundación CCMIJU es una entidad pública dedicada a la formación e investigación biomédica. Actúa como Organización de Investigación bajo Contrato (Contract Research Organization –CRO–) especializada en ensayos preclínicos *in vivo* para la industria farmacéutica-biotecnológica y de dispositivos médicos.

En octubre de 2014, junto con el CIBERBBN, dependiente del Instituto de Salud Carlos III, el Centro se incorpora al nuevo mapa de Infraestructuras Científico-Técnicas Singulares (ICTS) de España, bajo el paraguas de NANBIOSIS (infraestructura integrada de producción y caracterización de NANomateriales, BIOMateriales y SISTemas en biomedicina), orientada a aplicaciones médicas, que trata de dar un servicio completo y de fácil acceso, a través de una “ventanilla única”. Incluye diseño, producción de biomateriales y nanomateriales, caracterización de estos materiales, de tejidos, dispositivos médicos y sistemas desde un punto de vista físico, químico, funcional, toxicológico y biológico, incluyendo su validación preclínica.

«La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) le ha concedido la certificación de Buenas Prácticas de Laboratorio, máximo estándar de calidad para la realización de ensayos preclínicos.»

Servicios del CCMIJU:

- Entrenamiento práctico y personalizado en técnicas de cirugía mínimamente invasivas y otras especialidades relacionadas con la salud.
- Formación práctica siguiendo el sistema exclusivo de formación piramidal, dividido en niveles:
 - Nivel 1: Manejo de instrumental, ejercicios en simulador físico y virtual, disección, suturas, ergonomía.
 - Nivel 2: Protocolo anatómico-quirúrgico, técnicas por especialidades.
 - Nivel 3: Telecirugía, teleenseñanza, telemedicina.
 - Nivel 4: Aplicación hospitalaria; tutorización hospitalaria del alumno.El entrenamiento práctico forma parte de una formación reglada o bien personalizada (adaptada a las exigencias del cliente).
- Infraestructura Científico Técnica Singular (ICTS), proyectos de I+D cooperativa y bajo demanda.
Plataforma de investigación orientada a aplicaciones médicas, denominada NANBIOSIS, que ofrece servicios completos para la producción y caracterización de nanomateriales, biomateriales y sistemas en biomedicina.
- Ensayos preclínicos regulados bajo certificación de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).
Estudios de Toxicidad *in vivo*, Tolerancia y Farmacodinamia en medicamentos, así como validaciones de productos médicos, tanto en medicina humana como veterinaria, todo ello bajo la certificación del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL), expedida por el Ministerio Español de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.colvet.es/node/2816>



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

Medidas correctivas en procedimientos severos

C. Muñoz Mediavilla¹ y S. Salazar Fuentes²

1. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía

2. Charles River Laboratories

INTRODUCCIÓN

El Real Decreto 53/2013 por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos (1), incluyendo la docencia, establece en su artículo 27 que los procedimientos se clasificarán como «sin recuperación», «leves», «moderados», o «severos».

Según esta clasificación, se consideran severos: “los procedimientos a consecuencia de los cuales es probable que los animales experimenten dolor, sufrimiento o angustia intensos o moderados pero duraderos, así como los procedimientos que pudieran causar una alteración grave del bienestar o del estado general de los animales”.

Hay que tener en consideración que la clasificación de la categoría de severidad incluye cualquier intervención o manipulación de un animal en un procedimiento determinado y se basará en el efecto más severo que pueda experimentar uno sólo de esos animales después de aplicar todas las técnicas apropiadas de refinamiento.

En la asignación a un procedimiento de una categoría particular se han de tener en cuenta los siguientes factores, valorados caso por caso:

- Tipo de especie y genotipo, madurez, edad, sexo del animal y grado de aprendizaje del animal para el procedimiento.
- Tipos de manipulación y manejo y los posibles impedimentos de expresar el comportamiento natural, incluidas las restricciones en los estándares de alojamiento, zootécnicos y de cuidado de los animales.

- Naturaleza del dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero causados por todos los elementos del procedimiento, así como su intensidad, duración, frecuencia y la multiplicidad de técnicas empleadas, valorando el sufrimiento acumulativo en el procedimiento.
- Métodos utilizados para reducir o suprimir el dolor, el sufrimiento y la angustia, incluidos el refinamiento de las condiciones de alojamiento, zootécnicas y de cuidado de los animales, así como el uso apropiado de puntos finales humanitarios.

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS MEDIDAS CORRECTIVAS

Según lo expuesto, la clasificación final de la severidad está asociada a la gestión de los factores anteriores, gestión que se puede traducir en medidas correctivas que apliquemos en cada caso. Un análisis concienzudo de estas medidas y un replanteamiento de los puntos de partida iniciales podrían hacer que determinados procedimientos en principio clasificados para los animales como severos, se clasifiquen como moderados. Conseguríamos de este modo el objetivo primordial de mejora y guardia del bienestar animal en un ejercicio de refinamiento. Además, también ofreceríamos al investigador el beneficio administrativo de la gestión de un procedimiento - en principio sometido a evaluación retrospectiva y gestionado a través de cláusula de salvaguardia - que, mediante estas consideraciones, puede ser tramitado por la vía habitual.

Para la determinación de las posibles medidas correctoras a aplicar en un procedimiento concreto, deberíamos:

1) Listar los posibles efectos adversos sobre el bienestar animal esperados durante el procedimiento. Esta información puede configurarse a partir de la revisión de la literatura científica (que habitualmente no suele recogerse de forma explícita), pero para que sea real, debería también basarse en la experiencia directa de otros grupos de investigación o animalarios con experiencia en el mismo modelo, o uno similar. En cualquier caso, la utilidad de la información debe siempre valorarse, identificando si:

- *La periodicidad de supervisión de los animales para identificar esos efectos adversos es adecuada.* Por ejemplo, en el modelo de encefalomielite experimental autoinmune (EAE), en ratones C57BL/6j, los animales requieren una periodicidad variable según los síntomas: diaria hasta la aparición de la debilidad en la cola con evaluación del estado corporal (ya que aparece parálisis de extremidades), e ir aumentándola, llegando en algunos casos hasta tres veces al día, si existe dificultad en el vaciado de la vejiga. La frecuencia decrece igualmente a medida que los síntomas revierten. Esto supone que la supervisión "estándar" de una vez al día no permitiría la aplicación del punto final humanitario que evite una agonía en cubeta y supondría, por tanto, un aumento de la severidad.
- *La correcta identificación de los efectos adversos:* debemos asegurarnos de si determinados efectos son tenidos en cuenta, o corregidos, en grupos con experiencia previa en el modelo, ya que debido a la familiarización con el propio modelo (por ejemplo, se da por hecho que una cirugía tiene una mortalidad X, sin valorar posibles refinamientos, simplemente porque "siempre se ha hecho así"), o al miedo a las interacciones que pueden sufrir en los resultados en caso de introducir cambios, tanto la identificación de dichos efectos, como las medidas correctoras pueden estar sesgadas. Puede ser muy útil, en caso de modelos experimentales que reproducen enfermedades humanas, consultar los síntomas presentados en humana con especialistas en la materia y no descartar su existencia en el modelo por no poder medirlo. Por ejemplo, en infecciones experimentales que suelen cursar con procesos febriles, acondicionar la situación de las cubetas a zonas en las que los animales estén menos expuestos a ruidos, luz directa o molestias, de tal manera que reduzcamos el malestar del habitualmente denominado "mal estado general" del

animal y a su vez, facilitar la hidratación de los animales vía subcutánea o en comida gelificada.

2) Determinar cuáles de los efectos adversos identificados en el punto anterior hacen al modelo severo. Para ello, desarrollar una guía de valoración del bienestar animal: esta guía debe ser *ad-hoc* de cada procedimiento. La guía de valoración debe incluir parámetros generales (como por ejemplo el peso, el aspecto general, la conducta de acicalamiento propia de cada especie) y los parámetros específicos de cada modelo, identificando si la severidad está asociada a la combinación de todos ellos, o a algunos concretos sobre los que podamos actuar. Además, y para que sea cuantificable su severidad, debe plantear un sistema de valoración del efecto de cada uno (un simple formulario que valore un parámetro en "nada", "poco" o "mucho" puede aportar mucha información).

El anexo IX del RD 53/2013 expone ejemplos de procedimientos severos, que hemos agrupado en cuatro bloques:

- *Procedimientos en los que existe impedimento físico para moverse/comer/relacionarse*, como por ejemplo, el modelo anteriormente mencionado de EAE.
- *Procedimientos en los que la muerte se considera punto final del procedimiento.* Aunque en el pasado era frecuente encontrar este tipo de estudios, hoy en día es muy raro que no se puedan implementar puntos finales previos que permitan aliviar el sufrimiento del animal.
- *Procedimientos en los que existe dolor severo por cirugía o derivado del desarrollo de una patología inducida/genéticamente predeterminada.* Se puede citar como ejemplo el modelo de sección del nervio ciático.
- *Procedimientos en los que se produce angustia por indefensión propia del procedimiento*, como en los modelos de estrés crónico impredecible.

3) Implementar medidas correctivas de los efectos adversos detectados para cada procedimiento: una vez identificados los parámetros que producen los efectos adversos del procedimiento y planteado su sistema de valoración, es necesario realizar un análisis concienzudo de cada punto crítico para lograr minimizar el efecto de cada uno, con el objetivo de reducir el valor asignado a cada parámetro. El

sistema podríamos equiparlo al “análisis de peligros y puntos de control críticos” necesario para garantizar la inocuidad alimentaria.

Al igual que en el primer punto, es importante el intercambio de información con otros grupos con experiencia previa, e igualmente valorar y cuestionar la información. Debemos asegurarnos que las medidas correctivas aplicadas demostraban una remisión de los efectos adversos o, por el contrario, los animales no mostraban mejoría. Es importante determinar si las medidas correctivas están realmente adaptadas a la remisión de los efectos perjudiciales del modelo, o se trata de aplicación de medidas estándar que no siempre tienen porqué ser válidas para nuestro modelo. Por ejemplo: en la cirugía y recuperación del modelo de isquemia cerebral por ligadura de la arteria media, la ausencia de manta calefactora es un factor protector de una posible hemorragia al facilitar la hemostasis, por lo que un protocolo de postcirugía que incluya manta calefactora no sería adecuado, a pesar de que sea lo adecuado para la mayoría de los procedimientos quirúrgicos.

En relación a los cuatro bloques en los que de forma general agruparíamos los procedimientos ejemplo del RD 53/2013 clasificados como severos, podríamos ilustrar las siguientes medidas correctoras:

- *Procedimientos en los que existe impedimento físico para moverse/comer/relacionarse.* En caso de modelos en roedores podríamos implementar las siguientes medidas:
 - Incluir comida y bebida dentro de la jaula.
 - Añadir lecho de celulosa en lugar de viruta para evitar las heridas.
 - Evaluar específicamente el estado corporal, al menos de forma diaria.
 - Asegurar que, al menos, los miembros anteriores son funcionales y, en caso contrario, plantear que sea punto final humanitario.
 - Monitorizar que la micción/defecación se realiza de manera correcta y que no aparecen irritaciones de la piel en la zona perianal.
 - Alojar a los animales con otros compañeros cuando el estado de éstos es similar. Es contraproducente, por ejemplo, alojar ratones paralizados con otros normales, ya que pasarán sobre ellos constantemente.
 - Adaptar los refugios, para que puedan ocultarse.
 - Facilitar al menos el contacto visual y auditivo.

- *Procedimientos en los que la muerte se considera punto final del procedimiento:* en estos procedimientos, las medidas correctivas deben perseguir el punto final humanitario previo a la agonía. Por ejemplo, para la detección de la LD50 de un veneno, el planteamiento de un estudio piloto podría facilitar la identificación de aquellos síntomas asociados al veneno que aparecen previos a la muerte (por ejemplo, inicio de convulsiones), de tal manera que ante la aparición de los mismos se pueda aplicar el punto final humanitario.
- *Procedimientos en los que existe dolor severo por cirugía o derivado del desarrollo de una patología inducida/genéticamente predeterminada:* tomando como ejemplo los modelos de artritis reumatoide inducida en rata (2), que combinan cirugía y patología inducida, nos encontraríamos las siguientes opciones de medidas correctoras para los distintos puntos críticos identificables:
 - Dolor debido a la administración del inductor (inyección intradérmica o subcutánea): utilizar anestesia gaseosa para las vías intradérmicas, reducir el dolor y aumentar la precisión. Inyectar intradérmicamente en el dorso y no en la base de la cola. Mantener los volúmenes al mínimo necesario, es mejor utilizar múltiples sitios si se necesitan volúmenes mayores, pero no demasiado cercanos como para que haya confluencia, causando granulomas.
 - Dolor o ulceración alrededor del lugar de la inyección: inyectar en el dorso para un menor riesgo de ulceración. Las inyecciones adicionales pueden ser en el flanco si es necesario. Si el animal muerde o rasca demasiado el sitio de inyección, aplicar anestésico tópico local y revisar el protocolo de anestesia e inyección. Implementar un criterio de valoración basado en las características y la persistencia de la ulceración.
 - Efectos adversos específicos debidos al adyuvante, por ejemplo granuloma, irritación, lesiones: utilizar el adyuvante menos dañino posible, buscar alternativas en la literatura y evitar el uso de compuestos problemáticos como el adyuvante completo de Freund. En la medida de lo posible, emplear el adyuvante incompleto que provocará una reacción menor.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- La adecuación de un régimen anestésico se puede combinar, por ejemplo, con la inclusión de comida gelificada (previamente atemperada) y un protocolo específico de supervisión del estado del animal.

- Efecto del lipopolisacárido (LPS): proporcionar apoyo nutricional y de hidratación adicional antes de la inyección para que estén aclimatados, por ejemplo, a la comida gelificada. Monitorizar el peso corporal y la deshidratación.
- Articulaciones dolorosas, pies doloridos, cojera, discapacidad y angustia. Para los protocolos de inducción intraarticular, abordar una única articulación. Implementar refinamientos adicionales según la especie, como por ejemplo, refugios diseñados para que los animales no tengan que girar, boquillas que alarguen los biberones, lecho más blando (celulosa), material de anidamiento corto y suave (los hilos largos y/o *nestless* pueden enredarse en las articulaciones doloridas). Proporcionar una dieta suave y apetecible (por ejemplo, el calentar la comida potencia el olor y por tanto la apetencia de animales apáticos), o un gel dietético (acostumbrar a los animales antes de la fase aguda). Dar analgesia siempre que sea posible, asegurando las redosificaciones para que se mantenga el efecto.
- Dolor agudo: proporcionar analgesia si es posible, por ejemplo opioides durante la fase aguda. Proporcionar el enriquecimiento ambiental adecuado, no sólo dentro de la cubeta, sino en el ambiente en sala, y facilitar el alojamiento en grupo con similares.

- *Procedimientos en los que se produce angustia por indefensión propia del procedimiento.* Por ejemplo, en los modelos de indefensión aprendida (*learned helplessness*, LH) es crítico el uso de la prueba que proporcione una mejor discriminación entre grupos control y LH, ya que disminuye sobremanera el tamaño muestral y puede evitar una severidad excesiva. Se

pueden usar igualmente un número menor de ensayos, ya que a partir de 10 (en lugar de los 15 clásicos) no se incrementa la sensibilidad de la prueba, reduciendo el dolor ocasionado sin reducir la potencia estadística (3).

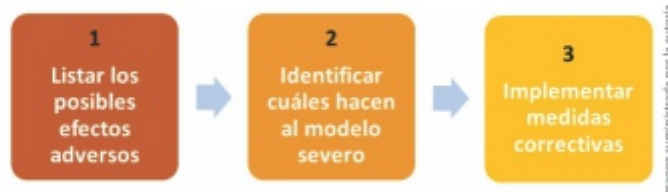


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Esquema del procedimiento para establecer medidas correctivas en procedimientos severos.

Para poder desarrollar estos puntos, se aconseja siempre la planificación de estudios piloto. Con ello:

- Se asegura la identificación de forma real de los puntos críticos en los que se desarrollan los efectos adversos, la idoneidad de la guía de valoración de bienestar animal y la eficacia de las medidas correctoras aplicables a esos efectos adversos (Refinamiento).
- Permite una puesta a punto en la que el fracaso no suponga el haber involucrado un número elevado de animales en procesos de dolor/angustia/sufrimiento severos (Reducción).
- En caso de modelos de nueva creación, valida o no el modelo, permitiendo sustituir la especie o diseñar un sistema alternativo en caso de que no sea válido (Reemplazo).

EL PAPEL DEL ESPECIALISTA EN SALUD Y BIENESTAR ANIMAL

Como norma general, los procedimientos que impliquen cualquier tipo de efecto adverso sobre la salud o bienestar (no hay bienestar sin salud) deben contar con el asesoramiento de un especialista, tanto en la fase de diseño y planificación como en la fase de desarrollo. A menudo, esta asesoría sólo se tiene en cuenta a la hora de cumplimentar los formularios de solicitud de proyecto, en los que el investigador se enfrenta a una redacción que no había considerado. Al igual que en un estudio en fase clínica una farmacéutica siempre contaría con el asesoramiento y supervisión de un equipo médico, los estudios con animales deben contar con un equipo que valore, diagnostique, trate y mejore los efectos de los procedimientos. Esto, en contra de posibles interacciones, permitirá obtener resultados más "limpios", exentos del ruido que muchas veces generan efectos colaterales y que pueden enmascarar o dificultar la obtención de resultados objeto de la investigación. Proponemos, por tanto, que cada procedimiento clasificado en principio como severo se analice como si se tratase de un paciente al que tenemos que realizarle una anamnesis clínica, de tal manera que obtengamos la información necesaria para formular el diagnóstico y aplicar el tratamiento que, respetando los objetivos del procedimiento, nos permita disminuir el nivel de severidad lo máximo posible.

BIBLIOGRAFÍA

1. Real Decreto 53/2013 por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos.
2. Adaptado de Hawkins P., Armstrong R., Boden T. *et al.* Applying refinement to the use of mice and rats in rheumatoid arthritis research. *Inflammopharmacol.* 2015, 23(4):131-50. DOI:10.1007/s10787-015-0241-4.
3. Richter S.H., Sartorius A., Gass P. *et al.* A matter of timing: harm reduction in learned helplessness. *Behav. Brain Funct.* 2014, 10:41. DOI:10.1186/1744-9081-10-41.

HÁGASE SOCIO BENEFACTOR
SU EMPRESA TAMBIÉN PUEDE SER PARTE DE LA SECAL

ESTAMOS
EN EL CENTRO DE
LA INVESTIGACIÓN
EN HABLA
HISPANA



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

El intercambio de cepas de ratón sin transporte de animales vivos: "embriones, espermatozoides, y epidídimos"

Gonzalo Moreno Del Val y Patricia Muñoz Robledano

Servicio de Transgénesis y Criopreservación. Instituto de Neurociencias de Alicante CSIC-UMH

INTRODUCCIÓN

El transporte de animales vivos supone la práctica habitual para intercambiar cepas de ratón de laboratorio. Sin embargo esta práctica no está exenta de problemas. Durante el transporte los animales estarán expuestos a múltiples factores estresantes como cambios en el ciclo de luz, cambio horario, variaciones de presión, ruidos, vibraciones, olores no familiares, y un amplio margen de temperaturas, incluso extremas (1), que en ocasiones pueden llegar a ocasionar la muerte de los animales. Estos factores estresantes originan, por otro lado, cambios fisiológicos en los animales (2), y por ello siempre es necesario un periodo de adaptación posterior. Aunque la mayoría de esos cambios fisiológicos, como el peso corporal o los niveles de corticosterona, vuelven a la normalidad tras varios días (3), otros valores pueden tardar semanas en normalizarse, como sucede con el ritmo circadiano de la corticosterona en viajes intercontinentales (4) o con el comportamiento sexual de hembras transportadas durante su pubertad (5, 6). Y en otras circunstancias puede provocarse un daño no reparable, como sucede con la mayor aparición de paladar hendido en crías nacidas de hembras gestantes sometidas a transporte (7). Por todo ello y desde el punto de vista de las 3 R's de Russell y Burch, existen opiniones que identifican en el transporte de animales vivos un problema de bienestar animal y que reclaman un esfuerzo para aumentar el transporte de embriones y gametos (8).

En cuanto al estatus sanitario de las instalaciones, la importación de material criopreservado o refrigerado puede representar un menor peligro que importar animales vivos. Por un lado, hay patógenos como muchos parásitos, cuya presencia en gametos o embriones podemos descartar. Además, si se importan animales positivos a alguna enfermedad del listado de FELASA y deben alojarse en cuarentena durante al menos 2 meses mientras se rederiva la cepa, implicará que no sólo se deberán establecer medidas para impedir la transmisión de esas enfermedades en el proceso de rederivación (como sucedería igualmente con la importación de gametos o embriones), sino también, habrá que controlar los animales, los materiales y el personal que entre en

contacto con ellos. Es por ello que algunos animalarios sólo aceptan el envío de gametos o embriones y no de animales vivos (9).

Por otro lado, el envío de animales vivos puede suponer, en ocasiones, un problema debido a la presión ejercida por los colectivos "animalistas" sobre las compañías aéreas y de transporte. Esto ya ha causado que algunas de estas compañías cancelen envíos (10), aunque en ningún caso han cancelado el transporte de embriones o gametos de animales de laboratorio, por lo que al menos algunos envíos de animales modificados genéticamente podrían solventarse con material criopreservado o refrigerado.

Por último, el envío de animales vivos puede ser extremadamente costoso. El *International Mouse Strain Resource*, en el que se muestran todas las cepas archivadas por los repositorios a nivel internacional, indica que actualmente existen 3.952 cepas disponibles vivas, mientras que disponen de 48.964 cepas criopreservadas en espermatozoides o embriones. Es por ello bastante frecuente que necesitemos una cepa que sólo existe congelada y si solicitamos que la revitalize el repositorio, en vez de importar el material criopreservado, la diferencia de precio puede ser hasta 8 veces superior dependiendo del repositorio que se trate. Por otra parte, el transporte internacional de animales tiene un alto precio si se elige una compañía que ofrezca las garantías necesarias, y sucede lo mismo cuando lo que transportamos son "dry shippers" con muestras criopreservadas. Sin embargo, si utilizamos el sistema de transporte de epidídimos los costes del envío son aproximadamente 10 veces menores que los sistemas habituales – ver Tabla 1 con los datos del transporte realizado en (11).

Método	Animales Vivos	Dry shipper reutilizable	Dry shipper desechable	Paquete para epidídimos
Presupuesto	1.767,44 €	1.709,50 €	751,84 €	147,30 €

Tabla 1.- Presupuestos para el transporte de líneas de Hong Kong a Alicante.

En definitiva, el transporte de gametos o embriones presenta numerosas ventajas para el intercambio de cepas de ratón de laboratorio y puede ser considerado, además, una alternativa más ética al transporte de animales vivos. Esto se traduce en que repositorios como EMMA cifrasen entorno al 10% el porcentaje de cepas exportadas como material criopreservado en los primeros años de la década pasada, y que ese porcentaje se situase ya cerca del 50% el año pasado. En nuestro centro comenzamos a importar material criopreservado a mediados de 2013 e implantamos la técnica de importación de epidídimos a finales de 2014; aun así, y teniendo en cuenta las 51 rederivaciones realizadas en el servicio entre 2013 y 2016, 19 de ellas se hicieron a partir de material criopreservado o refrigerado (37.25%; ver Gráficos 1 y 2).

Líneas Rederivadas 2013 - 2016

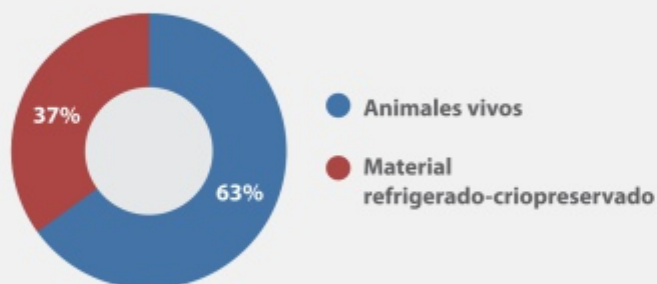


Imagen suministrada por la autoría

Gráfico 1.- Material importado para la rederivación de líneas en el periodo 2013-2016

Material congelado o refrigerado importado 2013 - 2016

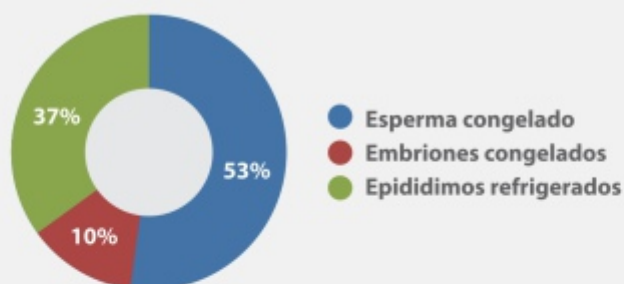


Imagen suministrada por la autoría

Gráfico 2.- Material refrigerado o criopreservado importado para la rederivación de líneas en el periodo 2013-2016.

SISTEMAS DE TRANSPORTE DE MUESTRAS REFRIGERADAS O CRIOPRESERVADAS

Para el transporte de gametos y/o embriones deberemos recurrir a distintos dispositivos en función, fundamentalmente, del estado del material (refrigerado o congelado) y de la duración estimada del transporte, pero en general estos dispositivos permiten el envío de una gran cantidad de muestras simultáneamente, cosa que resulta una importante ventaja frente al transporte de animales vivos.

Para el envío de muestras congeladas generalmente se utilizan "dry shippers" que aseguran temperaturas cercanas a los -200°C durante todo el trayecto. Esas temperaturas son esenciales para el envío de embriones congelados, aunque el esperma puede tolerar temperaturas superiores y por tanto, puede también enviarse en paquetes más sencillos con hielo seco (12).

Existen dos tipos de "dry shippers", los desechables y los reutilizables. Los "dry shippers" reutilizables (ver Figura 1) podemos encontrarlos de diferentes tamaños, siendo los grandes los más utilizados al permitir viajes de más de una semana de duración. Su coste inicial es más elevado que los contenedores desechables (aproximadamente 10 veces más) y por ello sólo suelen disponer de ellos repositorios e instituciones que realizan muchos envíos. Su principal inconveniente es que hay que pagar viaje de ida y vuelta para recuperar el envase y esto, asociado a su peso y volumen, hace que el coste asociado de su transporte para envíos internacionales sea aproximadamente el mismo que cuando se transportan animales vivos. Por otra parte, los "dry shippers" desechables (ver Figura 2) son pequeños, ligeros (menos de 5 Kg cuando están cargados) y útiles sólo en transportes de menos de 4 días. Su uso es relativamente económico para realizar envíos puntuales, al ser asequibles y tener un coste asociado a su transporte más bajo que en el caso de los contenedores reutilizables (aproximadamente la mitad).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Imágenes de un "dry shipper" reutilizable.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Imagen de un "dry shipper" desechable.

En el caso de las muestras refrigeradas suelen utilizarse pequeñas cajas de poliestireno expandido, con un termo u otro dispositivo que contiene las muestras y rodeado de acumuladores de frío (ver Figura 3). Como ya se ha comentado, su principal ventaja es el coste, ya que los paquetes pueden enviarse sin requerir medidas especiales por parte de la empresa de transporte. Aun así, la principal desventaja de estos métodos es que las muestras tienen una viabilidad limitada y por tanto, cualquier fallo en la cadena de transporte, retraso en aduanas, etc. puede hacer fallar el envío.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Imagen de una caja de poliestireno expandido para el envío de muestras refrigeradas.

TRANSPORTE DE EMBRIONES

Los embriones de ratón pueden transportarse en estado refrigerado o congelado, aunque el envío de embriones

refrigerados no es muy habitual ya que sólo pueden mantener su viabilidad alrededor de 96 horas cuando se conservan a 4°C (13) y además, requiere una elevada coordinación entre las instalaciones para tener preparadas a la recepción hembras pseudogestantes para realizar la transferencia.

El transporte de embriones congelados era, hasta hace poco tiempo, el método habitual de intercambio de cepas de ratón con material criopreservado, ya que la criopreservación de embriones ha sido durante varias décadas el método de elección a la hora de archivar cepas de ratón por su elevada fiabilidad. Un hecho que facilita el intercambio de embriones congelados es que muchas cepas se encuentran congeladas con el mismo método, que se estableció como el método estándar para un gran número de repositorios e instituciones, como sucede por ejemplo en nuestro propio laboratorio. Conocer el método de congelación resulta esencial, ya que en función de eso variará el método de descongelación. El método de congelación lenta en 2 células de Renard y Babinet (14) fue elegido por su elevada fiabilidad y especialmente por la facilidad para llevar a cabo el proceso de descongelación, lo que ayuda a que los laboratorios receptores puedan recuperar las muestras sin problemas. De todas maneras, en la actualidad las importantísimas mejoras conseguidas con el uso de esperma congelado han relegado a un segundo plano a la criopreservación de embriones y su transporte, aunque si tenemos interés en cepas criopreservadas en estado homocigótico o en cepas que fueron criopreservadas y eliminadas hace años, lo normal es que sólo haya embriones disponibles.

Los métodos que hemos descrito implican que en la instalación de origen y en la de destino se cuente con personal especializado que puedan obtener los embriones y transferirlos, respectivamente. Sin embargo, se pueden enviar de manera alternativa, aunque con menor viabilidad, los embriones en el interior del oviducto a temperaturas de refrigeración (15), no siendo necesario el especialista en la instalación de origen.

TRANSPORTE DE ESPERMA CONGELADO

El envío de esperma criopreservado es probablemente el método más utilizado a día de hoy para el intercambio de cepas de ratón sin transportar animales vivos (16) y el método de elección para archivar cepas gracias a su fiabilidad y sus múltiples ventajas respecto a la criopreservación embrionaria: es sencillo, rápido, barato, y pueden obtenerse potencialmente muchos más animales que con los embriones congelados. Es por ello que en

nuestro caso más del 90% de las cepas se criopreserven con esperma y que en los repositorios, el número de cepas disponibles en el IMSR en forma de esperma congelado haya superado ya a las cepas congeladas con embriones (26.267 frente a 22.697).

Se ha generalizado a nivel internacional el uso de dos métodos distintos para la criopreservación de esperma: uno que surge en los laboratorios Jackson en EEUU (17) y otro que surge en el laboratorio de Naomi Nakagata en el CARD (*Center for Animal Resources and Development*) en Japón (18). Los dos métodos y otros que podemos encontrar son válidos (19), pero resulta esencial a la hora de recuperar la muestra conocer cuál fue el utilizado, ya que aunque el método de descongelación pueda ser similar, la planificación de la fecundación *in vitro* variará bastante, dado que puede existir una diferencia importante en la concentración de las muestras (por ejemplo, las muestras espermáticas congeladas con el método Jackson están unas 10 veces más diluidas que las del método CARD).

Para la revitalización de las muestras, la inseminación artificial en el ratón no es muy eficiente (20) y por ello, el transporte de esperma congelado presenta la desventaja que para recuperar la línea es necesario producir los embriones primero, requiriendo de un laboratorio que realice la fecundación *in vitro* (FIV).

TRANSPORTE DE EPIDÍDIMOS REFRIGERADOS

El transporte de epidídimos refrigerados como método para enviar cepas de ratón se describió por primera vez hace más de 10 años (21); sin embargo, ha sido recientemente cuando gracias a ciertas mejoras, el método ha adquirido un mayor uso y reconocimiento. El sistema publicado por Takeo y Nakagata en 2012 (22) establecía cómo pueden obtenerse crías vivas a partir de epidídimos transportados por un máximo de 3 días a temperatura de refrigeración. En 2014, los mismos investigadores demostraron cómo el esperma obtenido de epidídimos refrigerados transportados durante 3 días puede ser posteriormente congelado y descongelado para obtener crías vivas (23). Esto eliminaba una de las limitaciones más importantes que tenían los métodos de transporte refrigerados, la necesidad de usar las muestras a su recepción, aunque el método seguía teniendo una importante limitación en cuanto a la duración máxima del transporte (3 días). Recientemente, nuestro grupo ha publicado un artículo en el que describimos que con una mejora en las condiciones de transporte y una cuidadosa selección espermática, se podía aumentar sustancialmente el periodo en el

que los epidídimos pueden ser una alternativa viable para transportar cepas de ratones, consiguiendo recuperar animales hasta después de transportar epidídimos refrigerados durante 8 días, y de congelar y descongelar el esperma (11).

Este sistema presenta muchas ventajas, como que en el animalario de origen no se necesita nitrógeno líquido, ni un especialista en criopreservación, o que los trámites burocráticos para la importación son mucho más sencillos que en el caso de los embriones, esperma o animales vivos al no ser necesaria la firma del veterinario oficial en origen; y además, su transporte es muy económico. Su principal desventaja radica, al igual que en el caso anterior, en que es necesario un laboratorio que realice la FIV para recuperar las muestras, lo que hace que su uso sea limitado debido al desconocimiento que existe sobre esta técnica. Aun así, el repositorio CARD en Japón indica haber enviado más del 50% de sus muestras en los últimos años mediante este método.

CONCLUSIONES

La creciente generalización de las técnicas de criopreservación y reproducción asistida en ratón hace que el intercambio de cepas de ratón sin necesidad de transportar animales vivos sea una alternativa viable y efectiva. Estas técnicas presentan además numerosas ventajas respecto al transporte clásico de ratones vivos: en los repositorios hay más cepas congeladas que vivas, su compra en estado criopreservado es mucho más económica, los costes del transporte son menores, pueden implicar menos riesgos sanitarios, permiten transportar más animales y líneas en menor espacio, son una opción para saltar bloqueos de transporte ya sea por presiones animalistas o por temperaturas extremas, pero sobre todo y de manera importante, suponen una buena opción de refinamiento, ya que desde el punto de vista de las 3R's existen numerosos trabajos que evidencian cómo el bienestar de los animales transportados puede verse afectado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Syversen E., Pineda F.J., and Watson J. *Temperature variations recorded during interinstitutional air shipments of laboratory mice*. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2008, 47(1):31-6.
2. National Research Council (US) Committee on Guidelines for the Humane Transportation of Laboratory Animals. *Guidelines for the Humane Transportation of Research Animals*. Washington (DC): National Academies Press (US) 2006. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19637/>

3. Van Ruiven R., Meijer G.W., van Zutphen J.F.M., et al. *Adaptation period of laboratory animals after transport: a review*. Scandinavian Journal for Laboratory Animal Science 1996, 23(4):185-90.
4. Weinert D., Eimert H., Erkert H.G., et al. *Resynchronization of the circadian corticosterone rhythm after a light/dark shift in juvenile and adult mice*. Chronobiol Int. 1994, 11(4):222-31.
5. Laroche J., Gasbarro L., Herman J.P., et al. *Reduced behavioral response to gonadal hormones in mice shipped during the peripubertal/adolescent period*. Endocrinology 2009, 150(5):2351-8.
6. Ismail N., Garas P., and Blaustein J.D. *Long-term effects of pubertal stressors on female sexual receptivity and estrogen receptor-alpha expression in CD-1 female mice*. Horm Behav. 2011, 59(4):565-71.
7. Brown K.S., Johnston M.C., and Niswander J.D. *Isolated cleft palate in mice after transportation during gestation*. Teratology 1972, 5(1):119-24.
8. Quigley C. *Lost in transit - a forgotten rodent welfare issue?* Altern Lab Anim. 2013, 41(1):P8-9.
9. Moreno-del Val G. *Designing, planing and executing a large scale in vitro fertilization (IVF) and embryo cryopreservation program for the moving of a research group with their 24 mouse mutant strains*. I Congreso Ibérico para las Ciencias del Animal de Laboratorio (XIII Congreso SECAL - III Congreso SPCAL); Cáceres 2015.
10. Pain E. *Canary Islands scientists up in arms after airlines stop shipping research animals*. Science 2016.
11. Moreno-Del Val G. and Munoz-Robledano P. *Revitalizing genetically-modified mouse strains using frozen-thawed sperm after up to 192 h of refrigerated epididymis transportation*. Lab Anim. 2017, DOI:10.1177/0023677217692612.
12. Okamoto M., Nakagata N., and Toyoda Y. *Cryopreservation and transport of mouse spermatozoa at -79 degrees C*. Exp Anim. 2001, 50(1):83-6.
13. Horikoshi Y., Takeo T., and Nakagata N. *N-acetyl cysteine prolonged the developmental ability of mouse two-cell embryos against oxidative stress at refrigerated temperatures*. Cryobiology 2016, 72(3):198-204.
14. Renard J.P. and Babinet C. *High survival of mouse embryos after rapid freezing and thawing inside plastic straws with 1-2 propanediol as cryoprotectant*. J Exp Zool. 1984, 230(3):443-8.
15. Kamimura E., Nakashima T., Ogawa M., et al. *Study of low-temperature (4 degrees C) transport of mouse two-cell embryos enclosed in oviducts*. Comp Med. 2003, 53(4):393-6.
16. Awasthi P.R., French C.F., Szein J., et al. *Frozen sperm as an alternative to shipping live mice*. Contemp Top Lab Anim Sci. 2003, 42(5):8-11.

17. Ostermeier G.C., Wiles M.V., Farley J.S., et al. *Conserving, distributing and managing genetically modified mouse lines by sperm cryopreservation*. PLoS One 2008, 3(7):e2792.
18. Takeo T. and Nakagata N. *Combination medium of cryoprotective agents containing L-glutamine and methyl- β -cyclodextrin in a preincubation medium yields a high fertilization rate for cryopreserved C57BL/6J mouse sperm*. Laboratory Animals 2010, 44(2):132-7.
19. Sztein J.M., Noble K., Farley J.S., et al. *Comparison of permeating and nonpermeating cryoprotectants for mouse sperm cryopreservation*. Cryobiology 2001, 42(1):28-39.
20. Stone B.J., Steele K.H., and Fath-Goodin A. *A rapid and effective nonsurgical artificial insemination protocol using the NSET device for sperm transfer in mice without anesthesia*. Transgenic Res. 2015, 24(4):775-81.
21. Mochida K., Ohkawa M., Inoue K., et al. *Birth of mice after in vitro fertilization using C57BL/6 sperm transported within epididymides at refrigerated temperatures*. Theriogenology 2005, 64(1):135-43.
22. Takeo T., Tsutsumi A., Omaru T., et al. *Establishment of a transport system for mouse epididymal sperm at refrigerated temperatures*. Cryobiology 2012, 65(3):163-8.
23. Takeo T., Fukumoto K., Kondo T., et al. *Investigations of motility and fertilization potential in thawed cryopreserved mouse sperm from cold-stored epididymides*. Cryobiology 2014, 68(1):12-7.



USTED
TAMBIÉN
PUEDE SER
PARTE DE
LA SECAL

www.secal.es



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio



Detail Report View **Wivarium Plus**

Blower Address: 190.168.15.15 Name: BLA.15.15 Report Date: 09/10/2014

	Supply	Exhaust	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:00:49...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:01:47...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:02:45...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:03:43...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:04:42...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:05:39...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:06:38...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:07:36...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:08:35...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar
Date Created: 09/15/2014 00:09:34...	ACH Temp Humidity 79.9 44 %	Temp Humidity 79.9 47 %	Blower	Heats	Prof/Bar

Print Report

Sodispan Research ha incorporado a su portfolio de representadas a la compañía americana Allentown. La fiabilidad, el rendimiento, la calidad, el valor, la experiencia en la fabricación y el esmerado servicio al cliente, hacen de Allentown la mejor alternativa en soluciones de alojamiento de los animales utilizados en la investigación biomédica.

Percepción del usuario del animal de laboratorio sobre analgesia, anestesia y eutanasia en roedores

Iván Ortega-Sáez, Sergi Vila y Garikoitz Azkona

Unidad de Experimentación Animal de Medicina. Centros Científicos y Tecnológicos de la Universidad de Barcelona (CCiTUB)

INTRODUCCIÓN

El Consejo de Bienestar de los Animales de Granja estableció las "cinco libertades" como indicadores generales de bienestar animal (FAWC, 1979). Estas libertades hacen referencia a que todo animal debe estar libre de hambruna y sed, libre de malestar, libre de dolor, heridas o enfermedades, libre para expresar los comportamientos naturales de la especie y libre de sentir miedo o sufrimiento. Desgraciadamente, la investigación científica afecta directamente a cada una de ellas. Es por ello, que uno de los retos de los investigadores es el de intentar disminuir la tensión entre el potencial beneficio de los resultados científicos y la necesidad de mantener el bienestar de los animales utilizados para este fin (Smith, 2006).

El principio de las tres Rs para el uso de animales utilizados con fines científicos establece que se debe hacer todo lo posible para Reemplazarlos siempre que sea posible por métodos alternativos que no usen animales vivos, Reducir su número al mínimo necesario para obtener resultados científicamente válidos y Refinar los experimentos para causar el mínimo dolor o sufrimiento (Russell y Burch, 1959). Estos principios se han establecido como consideraciones esenciales en la experimentación animal influenciando la legislación vigente (2010/63/UE) y mejorando la calidad de la ciencia (Flecknell, 2002).

Si bien existe un mayor consenso en cuanto a los principios de replazo y de reducción, en la implementación del principio de refinamiento es donde ha surgido mayor controversia (Flecknell, 1994). Dentro del refinamiento, Russell y Burch identificaron dos tipos de áreas, la inhumanidad contingente y la directa. El concepto de inhumanidad contingente, dolor o sufrimiento causado por el alojamiento de los animales en un laboratorio de investigación, enfatiza la necesidad de considerar toda la duración de la vida del animal, desde que nace hasta el método eutanásico empleado al final del estudio. Por otro lado, la inhumanidad directa hace referencia al dolor o al sufrimiento causado como resultado directo de los procedimientos de investigación (Russell y Burch, 1959).

Aunque se han hecho muchos progresos en el área del refinamiento, introduciendo más puntos finales humanitarios en los experimentos (Hendriksen y Morton, 1999), métodos de enriquecimiento ambiental (Baumans, 2000; Stauffacher, 2000 y Fraser *et al.*, 2000) o administrando analgesia (Coulter *et al.*, 2009 y Stokes *et al.*, 2009), gran parte de nuestro juicio sobre lo que representa el Refinamiento se basa en poco más que en el sentido común, que no tiene porque ser el acertado (Flecknell, 2002). El objetivo de este trabajo ha sido el de conocer la percepción del usuario del animal de laboratorio sobre aspectos relacionados con la inhumanidad directa, como son la analgesia, la anestesia y la eutanasia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Con el fin de conocer la percepción de los investigadores que trabajan con roedores de laboratorio sobre aspectos relacionados con la analgesia, la anestesia y la eutanasia, diseñamos una encuesta en versión *on-line* (plataforma Drive de Google), facilitando así la difusión de la misma por *e-mail* (lista de distribución de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio y la de los usuarios de las Unidades de Experimentación Animal de Medicina y Sant Joan de Déu de la Universidad de Barcelona). La encuesta consistía en 10 preguntas con diferentes opciones de respuesta.

RESULTADOS

La encuesta la realizaron 271 usuarios de animales de laboratorio que trabajan tanto con rata como ratón. De los encuestados, el 64.2% fueron mujeres y el 35.8% hombres, con una edad media de 38 años. En cuanto a los estudios, el 61.6% son doctores, el 26.6% tienen una licenciatura, el 10.7% formación profesional y el 1.1% restante el bachiller. La gran mayoría de participantes trabajan en Cataluña (65.3%), pero también participaron usuarios de la Comunidad Valenciana (10.3%), Madrid (9.2%), País Vasco (5.5%), Andalucía (5.3%), Castilla la Mancha (3%), Castilla León (1.1%) y Murcia (0.4%).

Nos interesaba saber si los usuarios perciben como necesario el uso de la analgesia en las intervenciones quirúrgicas y si es antes, durante o después de la operación. Para ello se les preguntó si creían necesario el uso de analgesia pre-, intra- y post-operatoria, dando como respuestas posibles sí, no o tal vez. El 51.3% de los usuarios que contestaron la encuesta creen necesario, en cualquier caso, administrar analgesia antes de la intervención, mientras que el 34.7% tal vez la pondría, y el 14% no creen necesaria la administración de analgesia pre-operatoria (ver Figura 1A). Durante la intervención, el 43.9% de los usuarios aplicaría analgesia, el 40.2% tal vez, y el 15.9% restante nunca (ver Figura 1B). Finalmente, el 78.6% de los encuestados creen necesario el uso de analgesia después de la intervención, el 19.2% tal vez y el 2.2% no administrarían nunca analgesia tras una operación (ver Figura 1C).

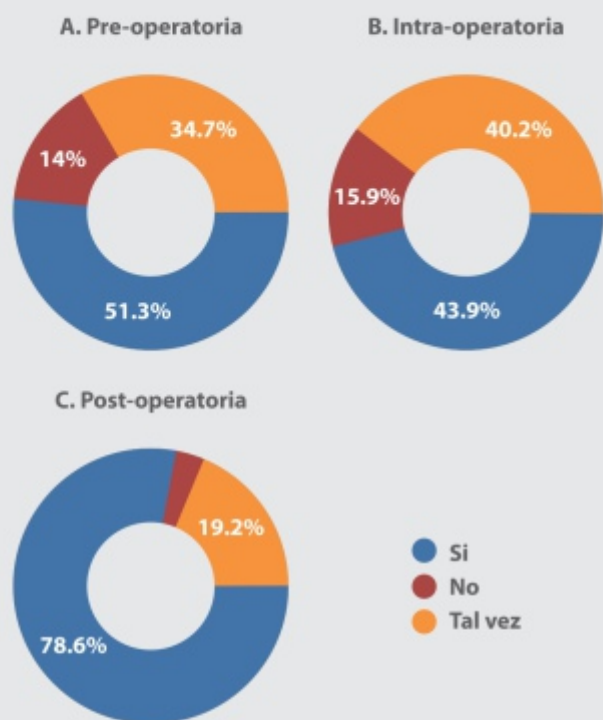


Figura 1.- Representación gráfica en porcentajes del (A) uso de analgesia pre-operatoria, (B) intra-operatoria y (C) post-operatoria.

Otro de los aspectos que nos interesó hizo referencia a los fármacos que utilizaban los participantes como analgésicos en ratones y ratas. La buprenorfina es el fármaco más utilizado por los usuarios que contestaron la encuesta, ya que el 63.8% de ellos la utilizan habitualmente, seguida del meloxicam con un 30.5%, y el paracetamol, un 12.3% (ver Figura 2).

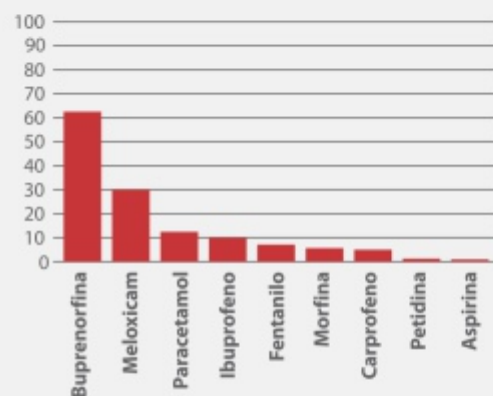


Figura 2.- Representación gráfica en porcentajes de los principales analgésicos utilizados en roedores.

Referente a la anestesia, prácticamente la totalidad de los participantes, un 99.3%, contestaron que es necesario el uso de anestésicos para llevar a cabo una intervención quirúrgica (ver Figura 3A), mientras que solamente el 39.9% de los usuarios respondieron que utilizan anestesia local en sus cirugías (ver Figura 3B).

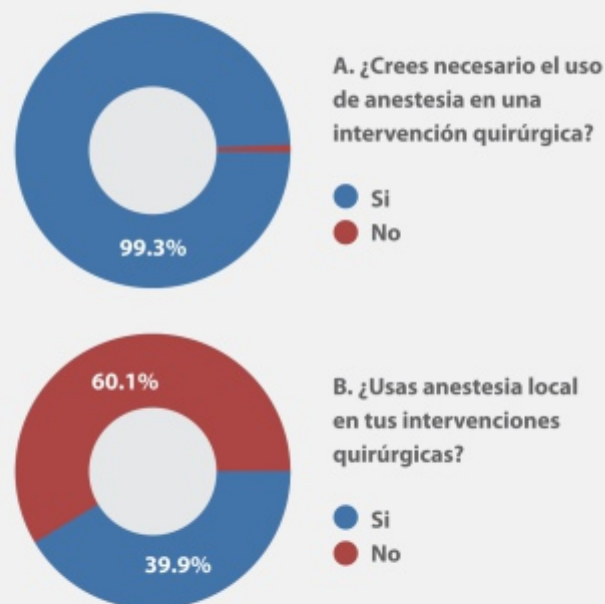


Figura 3.- Representación gráfica en porcentajes del (A) uso de anestesia en intervenciones quirúrgicas y (B) uso de anestesia local en intervenciones quirúrgicas.

En este apartado también preguntamos sobre los fármacos más utilizados por los usuarios para anestesiarse los animales y los resultados mostraron que el 71.6% administra isoflurano. El segundo fármaco más utilizado fue la ketamina (67.4%), seguido de la xilacina (53.4%). El 15.5% de los usuarios utilizan el pentobarbital para sus intervenciones quirúrgicas, mientras que solamente el 11.4% la medetomidina (ver Figura 4).

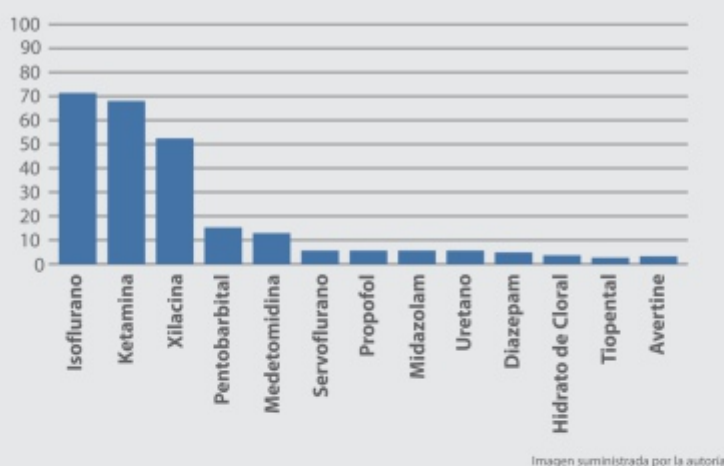


Figura 4.- Representación gráfica en porcentajes de los principales anestésicos utilizados en roedores.

Otra de las preguntas estaba dirigida a saber si los usuarios seguían algún tipo de protocolo de supervisión durante sus investigaciones y el 94.1% de los encuestados contestó afirmativamente.

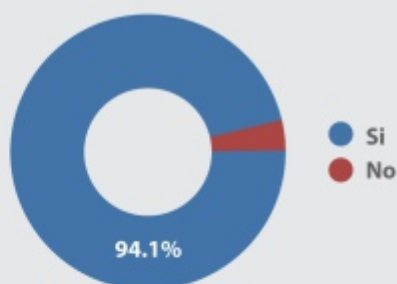


Figura 5.- Representación gráfica en porcentajes del uso de protocolos de supervisión.

En la cuestión número 9 preguntábamos sobre la percepción de los usuarios sobre lo desagradable que les puede resultar aplicar

diferentes técnicas para eutanasiar roedores. Para ello se les pidió que valoraran 4 métodos eutanásicos clasificándolos del 1 al 4, siendo el 1 el menos desagradable. Los datos mostraron que el método menos desagradable de aplicar era la sobredosis de anestésico, seguido de la aplicación de dióxido de carbono (CO₂) y la dislocación cervical, siendo el más desagradable la decapitación (ver Figura 6).

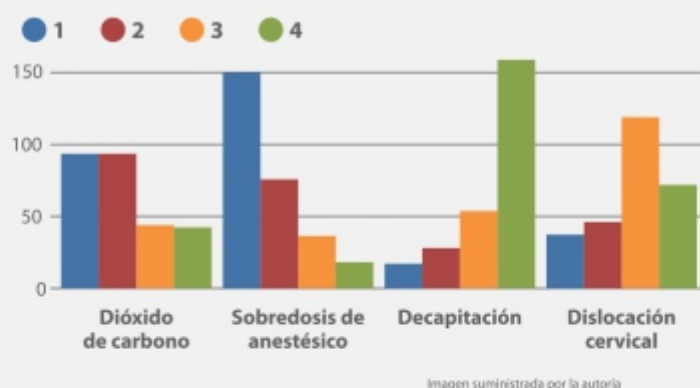


Figura 6.- Representación gráfica de la clasificación sobre la percepción de los usuarios ante los diferentes métodos eutanásicos, siendo 1 el percibido como menos desagradable y 4 el más desagradable.

Por último, quisimos saber cuál era el método más utilizado por los usuarios para confirmar la muerte del animal. Los encuestados contestaron que el método más utilizado es la luxación cervical (59.8%), seguido de la confirmación del cese permanente de la circulación (32.8%), confirmación del *rigor mortis* (25.8%), desangramiento (14.4%), destrucción del cerebro (7.4%) mientras que un 4.8% no utiliza ningún método para confirmar la muerte (ver Figura 7).

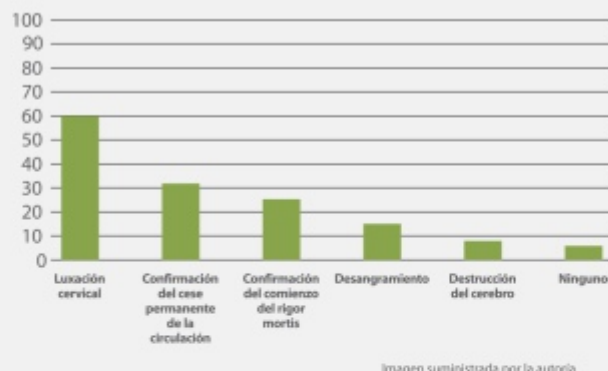


Figura 7.- Representación gráfica en porcentajes sobre los métodos confirmatorios de la muerte del animal.

DISCUSIÓN

Reducir el sufrimiento de los animales mediante técnicas de refinamiento es un componente importante de la buena práctica científica (Hawkins *et al.*, 2009). Esta encuesta nos ha permitido conocer y evaluar la percepción de los usuarios de roedores de laboratorio sobre la aplicación de técnicas para reducir el dolor o la angustia.

Los resultados muestran que como mínimo la mitad de los encuestados utilizan analgesia antes, durante o después de sus intervenciones quirúrgicas. Sin embargo, la administración de agentes analgésicos post-operatorio debería de alcanzar el 100%, y no llega al 80%. En un trabajo anterior se observó un incremento del uso de analgesia por parte de la comunidad científica asociado al tiempo, aunque solamente el 20% de los estudios en el que se describían procedimientos quirúrgicos especificaban la administración de agentes anestésicos (Stokes *et al.*, 2009). En nuestro trabajo no podemos valorar si ha aumentado la concienciación de los usuarios sobre el dolor producido por una intervención quirúrgica, por lo que sería interesante volver a repetir esta encuesta dentro de 5 años. Pasado este tiempo, podremos determinar si habrá o no una mayor concienciación sobre el uso de analgesia pre-, intra- y post-operatoria en roedores. Por otro lado, hemos podido observar que el fármaco más utilizado es la buprenorfina, mismo resultado observado en el trabajo mencionado anteriormente (Stokes *et al.*, 2009).

En cuanto a la anestesia, casi el total de los usuarios la utilizan en sus intervenciones quirúrgicas. Queremos suponer que las dos personas que contestaron que no, fue por un error. Tanto el uso de anestesia inhalatoria como la parenteral están equiparadas, siendo los fármacos más utilizados el isoflorano, la ketamina y la xilacina, resultados similares observados en un trabajo previo (Stokes *et al.*, 2009). Sin embargo, según indican los datos el uso de anestesia local no está muy extendido.

Pedimos a los encuestados que valoraran numéricamente lo desagradable que puede resultar la aplicación de diferentes métodos eutanásicos recogidos en el RD53/2013. Los resultados mostraron que los métodos menos desagradables son los que aplican agentes inhalatorios o parenterales para la eutanasia, mientras que los dos métodos físicos son los que más rechazo provocan. En una encuesta electrónica realizada durante la segunda reunión de Newcastle sobre eutanasia en animales de laboratorio, los participantes contestaron que los métodos eutanásicos que utilizaban con más frecuencia eran el CO₂ y la

dislocación cervical en ratón, mientras que en rata fueron el CO₂ seguido de la sobredosis de anestesia parenteral (Hawkins *et al.*, 2016). En esta conferencia se concluyó que existen métodos eutanásicos menos humanitarios que otros, como por ejemplo el utilizar gases inertes como el argón o el nitrógeno para producir anoxia frente a otros agentes inhalatorios. El CO₂ ha de administrarse de forma creciente, aunque existen evidencias de que los anestésicos volátiles proveen un potencial refinamiento frente al CO₂ o la anoxia para eutanasiar los animales. En cuanto al uso de métodos físicos, el informe determina que la decapitación no deberá de utilizarse de forma rutinaria y que la dislocación cervical es un método eutanásico que solamente lo podrán realizar personal cualificado (Hawkins *et al.*, 2016).

Por último, los resultados mostraron que de entre todos los métodos de confirmación de muerte del animal descritos en el RD53/2013 la luxación cervical era el más utilizado. Este resultado podría estar más relacionado con el método utilizado por los encuestados cuando se trata de ratón, y pone de manifiesto que, si bien la encuesta estaba orientada a usuarios de roedores, deberíamos de haber separado esta pregunta de la encuesta por especie, y realizar una para ratón y otra para rata, con el fin de tener unos datos más concluyentes por especie.

Aún y todo, y teniendo en cuenta todas las limitaciones como pueden ser el anonimato de una encuesta realizada *on-line* y la falta de separación por especies en algunas preguntas, nuestros datos indican que la mayoría de investigadores son conscientes del dolor y/o sufrimiento que puede causar a un animal una intervención quirúrgica. Sería muy interesante utilizar estos datos como punto de partida y realizar la misma encuesta dentro de 5 años, con el fin de valorar si, por ejemplo, los programas de concienciación del uso de analgesia surten efecto y su uso post-operatorio alcanza el 100%.

BIBLIOGRAFÍA

- Baumans V. (2000). *Environmental Enrichment: a right of rodents*. En M. Balls, A.-M. van Zellerand, and M. Halder (Eds.), *Progress in the Reduction, Refinement and Replacement of Animal Experiments*, 2000. Amsterdam: Elsevier.
- Coulter C.A., Flecknell P.A., and Richardson C.A. *Reported analgesic and anaesthetic administration to rabbits, pigs, sheep, dogs and non-human primates undergoing experimental surgical procedures*. *Laboratory Animals* 2009, 43: 232-8.

- Fraser D., Jasper J., and Weavy D.M. *Progress in the Reduction, Refinement and Replacement of Animal Experiments*. En M. Balls, A.-M. van Zellerand, and M. Halder (Eds.), *Progress in the Reduction, Refinement and Replacement of Animal Experiments*, 2000. Amsterdam: Elsevier.
- FAWC (1979). *The five freedoms*. London: Farm Animal Welfare Council.
- Flecknell, P.A. *Refinement of animal use-assessment and alleviation of pain and distress*. *Laboratory Animals* 1994, 28:222- 31.
- Flecknell, P.A. *Replacement, reduction and refinement*. *ALTEX* 2002, 19(2):73-8.
- Hawkins P., Morton D.B., Burman O., et al. *Guía para definir e implementar protocolos para la evaluación del bienestar de los animales de laboratorio: décimo primer informe del Grupo de Trabajo sobre Refinamiento BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW*. *Laboratory Animals* 2009, 43:311-27.
- Hawkins P., Prescott M.J., Carbone L., et al. *A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia*. *Animals* 2016, 6(9):50.
- Hendriksen C.F.M. and Morton D.B. *Humane Endpoint in Animal Experiments for Biomedical Research*, 1999. London: Royal Society of Medicine Press.
- Russell W.M.S. and Burch R.L. *The Principles of Humane Experimental Technique*, 1959. London: Methuen and Co Lt.
- Stauffacher M. *Refinement in rabbit housing and husbandry*. En M. Balls, A.-M. van Zellerand, and M. Halder (Eds.), *Progress in the Reduction, Refinement and Replacement of Animal Experiments*, 2000. Amsterdam: Elsevier.
- Stokes E.L., Flecknell P.A., and Richardson C.A. *Reported analgesic and anaesthetic administration to rodents undergoing experimental surgical procedures*. *Laboratory Animals* 2009, 43:149-54.
- Smith K. *Animal research: caught in the middle*. *Nature* 2006, 444, 811.



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

**ANUNCIE
EN ANIMALES
DE LABORATORIO**

LA REVISTA DE
LA SECAL

publicidad.revista@secal.es



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio



Granja San Bernardo

*Minimal Disease
Level Rabbits*

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

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

Refinamiento en los muestreos de sangre seriados en rata con el uso del *Pinport*

Violeta Solís, John Sparrowe, Magdalena Jiménez, Julia Sánchez, Ángeles Talavante, Cristina Muñoz y Antonio Martínez
GlaxoSmithKline I+D. In Vivo Science & Delivery. Diseases of the Developing World, Tres Cantos, Madrid

INTRODUCCIÓN

En el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos es necesario realizar estudios de farmacocinética (PK) en roedores, con la finalidad de determinar las propiedades farmacocinéticas de las nuevas entidades químicas y poder progresar los mejores compuestos para el desarrollo de nuevos tratamientos.

En nuestro centro, las farmacocinéticas en rata se llevan a cabo en animales con una vía permanente como método de refinamiento (como recomienda el *National Centre for the Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research-NC3Rs*), al permitir recoger las muestras de sangre sin tener que utilizar un cepo para inmovilizar al animal, ni tener que realizar venopunción de las venas de la cola. Para ello, se implanta quirúrgicamente un catéter en la vena yugular de la rata y se exterioriza a través de la zona interescapular para evitar que el animal pueda dañarlo. La canulación de la vena yugular es la más utilizada en estudios de PK (Peternel *et al.* 2010), prefiriéndose sobre la femoral al no afectar a la locomoción (Torres-Reverón *et al.* 2006). La recuperación de esta cirugía es rápida: los animales pierden poco peso y a los cuatro días ya exhiben niveles bajos de ACTH (hormona adrenocorticotropa) y corticosterona, así como una actividad circadiana normal (Thrivikraman *et al.* 2002, Peternel *et al.* 2010). Por todo esto, la canulación de la vena yugular es el método de elección para tener acceso a una vía central y permitir los muestreos repetidos de sangre en los estudios de PK.

Una vez que tenemos a los animales canulados, existen diferentes métodos de exteriorización y acceso al catéter para obtener las muestras de sangre, que tienen el potencial de afectar al bienestar de los animales en mayor o menor grado. Este trabajo refleja el refinamiento que hemos llevado a cabo en

el sistema de exteriorización y acceso al catéter para la toma de muestras seriadas de PK en rata.

Todos los estudios con animales pasaron por una revisión ética y se llevaron a cabo de acuerdo con el Real Decreto 53/2013 y la política interna de GSK sobre el cuidado, bienestar y trato ético a los animales.

MATERIALES

Los materiales específicos requeridos para esta técnica se detallan a continuación:

1. *Pinport*

El *Pinport* (Instech®) es un tapón intermitente para catéter especialmente diseñado para rata y ratón. Tiene un peso (0.1 g) y un volumen muerto (3 µl) muy reducidos y permite la toma de muestras de sangre de una forma limpia, sencilla y rápida. Con respecto al uso de un catéter con tapón metálico, el *Pinport* simplifica la toma de muestras al no tener que pinzarlo en los cambios de jeringuilla (3 pasos frente a 9). Para evitar el riesgo de pincharse con la aguja en la toma de muestras, se utiliza un inyector con la aguja cubierta y que encaja en el *Pinport* (ver Figura 1).

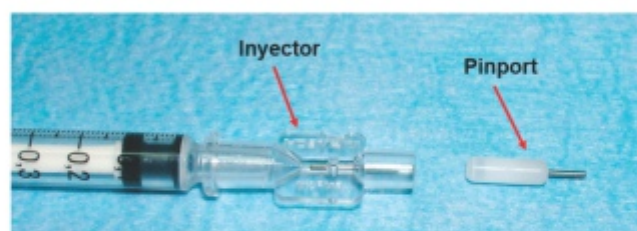


Imagen suministrada por la autora

Figura 1.- Detalle del *Pinport* de 22G y de la aguja modificada (inyector) que se usa para recoger muestras de sangre del catéter.

Técnicas

2. Catéter

El catéter (poliuretano 3Fr, con dos olivas de retención, Instech®) se compra estéril y envasado en paquetes individuales.

Si el coste es un factor limitante, se puede comprar en rollo y cortar cuidadosamente secciones de la longitud que se requiera, pero debe tenerse mucho cuidado para que el corte sea lo más limpio posible. En este caso, los catéteres deben desinfectarse previamente a la cirugía; se envasan en bolsas con filtro y se esterilizan externamente mediante vapor de peróxido de hidrógeno. Para desinfectar el lumen del catéter, al menos una hora antes de la cirugía, se rellena el catéter con enrofloxacino. El antibiótico debe retirarse antes de implantar el catéter (ver Figura 2).

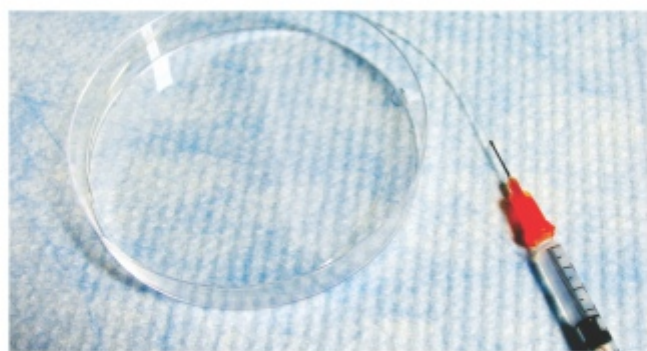


Figura 2.- Catéter preparado para la cirugía tras lavar el enrofloxacino. La jeringuilla contiene salino heparinizado y lleva una aguja sin punta (Instech) que se ajusta en el catéter sin que haya riesgo de agujerearlo.

3. Heparina

Se utilizan dos soluciones diferentes con heparina sódica:

- Una concentración de 20 UI/ml en solución salina para la cirugía y los muestreos iniciales, de mayor frecuencia.
- Una concentración de 500 UI/ml en glicerol al 50% (solución *lock*), para rellenar el catéter durante el tiempo que no se va a utilizar y evitar que la sangre en el extremo interno se coagule.

4. Tapones metálicos

Entre el día de la cirugía y el día de estudio, el catéter se cierra con un tapón metálico en vez de un Pinport (ver Figura 3). Esto reduce las posibilidades de que la rata pueda tirar del catéter y arrancárselo.



Figura 3.- Rata preparada para poner el Pinport dentro de una JollyBall, se puede apreciar el catéter cerrado con el tapón metálico.

PROCEDIMIENTO

Las ratas deben operarse una semana antes del estudio para darles tiempo a recuperarse completamente de la cirugía.

1. Premedicación y anestesia

Los animales se premedican con midazolam (i.p. 2 mg/kg) y atropina (i.p. 0.05 mg/kg). Como anestesia se utiliza Isoflurano al 3% para la inducción y al 2% para el mantenimiento. Una vez anestesiado el animal, se rasura el pelo del área derecha del cuello y de entre las escápulas. La piel se desinfecta con etanol 70% - yodo - etanol 70% y se aplica crema EMLA en las zonas rasuradas como anestésico local. Ya con la rata sobre la mesa quirúrgica, se administra enrofloxacino (s.c. 20 mg/kg) y para la analgesia, dexketoprofeno trometamol (i.v. 2 mg/kg). Se utiliza colirio (Lacryvisc®) para proteger los ojos.

2. Técnica quirúrgica

Para llevarla a cabo se utilizó un método modificado a partir de Waynforth & Flecknell (1999).

La rata se sitúa en decúbito supino, con la cabeza hacia el cirujano, sobre una manta térmica a 37 °C cubierta con un paño estéril. Se hace un corte de 1-1.5 cm en la zona derecha del cuello y se disecciona la yugular derecha mediante disección roma. Se pasan dos hebras de seda de 4-0 bajo la yugular y se anuda y cierra el extremo craneal. El caudal se anuda pero se deja suelto. Se dobla la punta de una aguja de 21G en ángulo recto y se usa como

introducir el catéter (ver Figura 4). La longitud del catéter a introducir en la vena se establece según la gráfica de la Figura 5. Una vez introducida la longitud adecuada del catéter, se anuda la ligadura caudal sobre éste. Se comprueba que pueda extraerse sangre y se lava con la solución heparina/salino. La sutura craneal se vuelve a anudar, esta vez sobre el catéter para una mejor sujeción del mismo. Para mayor seguridad, una vez cortados los extremos de las suturas, se fijan ambos nudos con pegamento quirúrgico (Histoacryl®). Se pasa el catéter subcutáneamente hasta la parte posterior del cuello y se exterioriza entre las escápulas. Para ello, se utiliza una aguja de 14G para abrir un pequeño orificio en la piel y a través de ella se saca el catéter; se deja fuera una pequeña porción del mismo (aproximadamente 15 mm). Bajo la piel se deja también una pequeña porción del catéter (10-15 mm), por seguridad en caso de tirones. La porción exterior del catéter se sujeta a la piel con pegamento quirúrgico o con sutura de 4-0 si tiene olivas de retención.

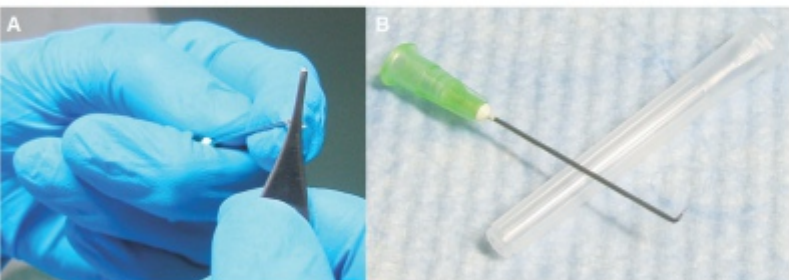


Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Introducir el catéter. **A.** Preparación del introductor, una aguja de 21G con la punta doblada con una pinza Adson. **B.** Resultado final.

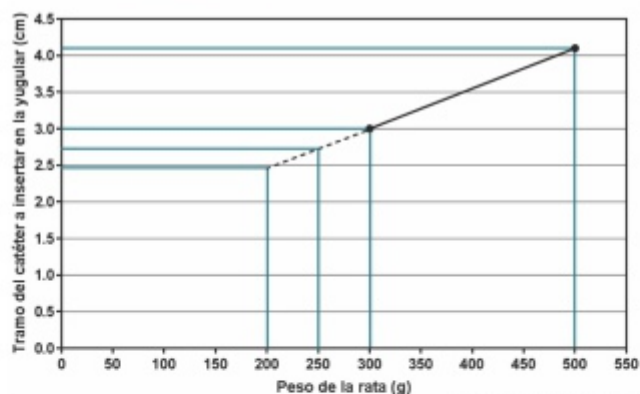


Imagen suministrada por la autoría

Figura 5.- Sección del catéter que se introduce en la yugular dependiendo del peso de la rata (a partir de Waynforth & Flecknell 1999; la línea de puntos indica datos extrapolados a partir de la referencia indicada).

Se cierra la incisión del cuello con grapas, normalmente dos serán suficientes. Se coloca al animal en decúbito prono y se vuelve a comprobar que el catéter funciona correctamente. El catéter se rellena con la solución lock en un volumen que supere al volumen muerto del catéter en unos 30-40 µl. El volumen muerto en µl se calcula multiplicando la longitud del catéter en cm por 3.2.

El catéter se cierra con un tapón metálico de 23G (Instech®) hasta el día de la PK, cuando se sustituye por el Pinport, a través del que se puede obtener la muestra de sangre directamente con una aguja modificada (ver Figura 6).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 6.- Toma de una muestra de sangre con el Pinport. La jeringuilla que tiene el operario es para la recogida de la muestra de sangre; la que está en la mesa es la que se utiliza para lavar el catéter con salino.

3. Cuidados postoperatorios

Al terminar la cirugía, las ratas se colocan individualmente en una cubeta limpia dentro de un armario calefactor a 35 °C, hasta que estén completamente despiertas. Para facilitarles el acceso a la comida y a la bebida en las 24 horas posteriores a la cirugía, se pone en la cubeta dos bolas con aroma a chocolate como premio (Supreme Minitreats chocolate flavour, Datesand®), un puñado de pellets y media taza de agua en gel (Hydrogel, Clear H₂O®). Además, se le pone la tapa a la jaula con pienso y biberón.

Los animales no deben mostrar ningún síntoma de dolor o malestar a las 24 horas de la operación. Si lo mostraran, se pueden tratar con un AINE. La evolución del peso es una buena indicación del estado de los animales; si éste es óptimo, deben haber recuperado el peso prequirúrgico a las 48 horas.

Técnicas

4. Mantenimiento del catéter

El catéter requiere poco mantenimiento, únicamente el día anterior al estudio de PK (aproximadamente 5 días tras la operación) se comprueba la permeabilidad de los catéteres. Para ello, se empujan 50 µl de solución *lock*, se retiran 50 µl de sangre y se lava con 100 µl de solución heparina/salino. Luego se rellena el catéter de nuevo con solución *lock*. El día del estudio de PK se vuelve a comprobar y se sustituye el tapón metálico por el Pinport que se mantiene así hasta el final del estudio.

5. Muestras

Los muestreos con Pinport suponen tres pasos:

- Paso 1. Se retira la solución *lock*, mezclada con una pequeña parte de sangre que se elimina (50 µl en total).
- Paso 2. Se cambian la jeringuilla y el inyector y se recoge la muestra de sangre.
- Paso 3. Una vez recogida la muestra, se lava el catéter con 50 µl de solución heparina/salino con una aguja e inyector nuevos. Si el tiempo hasta la siguiente muestra va a ser largo, se inyectan también 50 µl de solución *lock*.

BENEFICIOS DEL USO DE PINPORT

El sistema del Pinport ha supuesto un refinamiento importante en nuestros estudios de PK en rata. Previamente utilizábamos un procedimiento más complejo, similar a los que se utilizan con sistemas de muestreo automático de sangre, que restringía la movilidad y el enriquecimiento ambiental que se podía poner a los animales. Con el uso del Pinport estos problemas se han resuelto y las ratas operadas se pueden alojar en jaulas normales con el enriquecimiento ambiental estándar. Este sistema tiene un menor impacto en los animales ya que se recuperan rápidamente de la cirugía. Además, al exteriorizarse el catéter por un orificio de tan pequeño tamaño, se asegura el cierre completo de la herida y se reduce el riesgo de infección, mejorando también el tiempo de permeabilidad del catéter.

Por otro lado, el Pinport es el método de elección por parte del personal técnico, dado que facilita la toma de muestras y las ratas responden muy bien a la manipulación, manteniéndose muy tranquilas, por lo que una persona sola puede realizar los muestreos (ver Figura 7). Es posible también realizar estudios cortos de infusión continua de hasta 1 hora, habituando a las ratas al cepo y conectando el catéter al sistema de infusión mediante un conector metálico en vez de utilizar el Pinport.

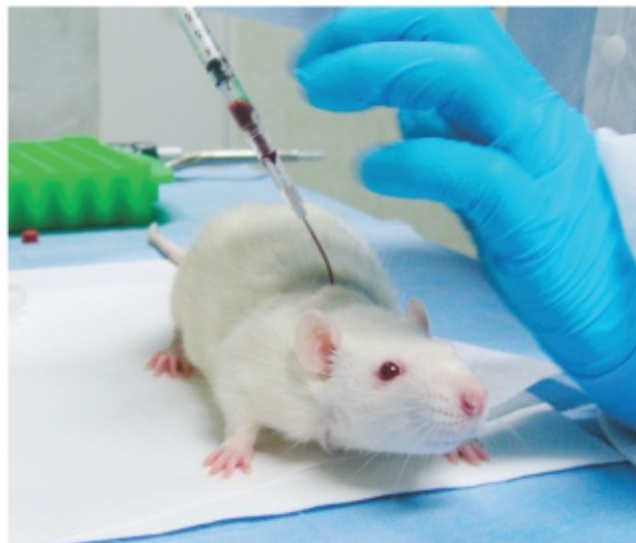


Imagen suministrada por la autora

Figura 7.- Las ratas se mantienen muy tranquilas durante los muestreos, por lo que una persona sola puede realizarlos sin problema. Como se puede apreciar en la imagen, una vez se han acostumbrado a la manipulación de los primeros muestreos, a menudo no hace falta ni sujetarlas.

En conclusión, el sistema de Pinport es el más adecuado con respecto tanto a la calidad del modelo experimental como al bienestar de los animales, por lo que lo hemos adoptado como rutina para el muestreo seriado de sangre en estudios de PK.

BIBLIOGRAFÍA

- NC3Rs www.nc3rs.org.uk/rat-decision-tree-blood-sampling
- Peternel L., Škrajnar S., and Černe M. A comparative study of four permanent cannulation procedures in rats. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 2010, 61(1):20-6.
- Thiruvikraman K.V., Huot R.L., and Plotsky P.M. Jugular vein catheterization for repeated blood sampling in the unrestrained conscious rat. *Brain Research Protocols* 2002, 10(2):84-94.
- Torres-Reverón A., Melnick S.M., Stephenson S.J., et al. Standardization of a novel blood-sampling method through the jugular vein for use in the quantified [^{14}C] 2-deoxyglucose method. *Journal of Neuroscience Methods* 2006, 150(2):143-9.
- Waynforth H.B. and Flecknell P.A. *Experimental and Surgical Technique in the rat*. Segunda edición. 1999. Academic Press.

Tan cerca
como ellos,
del personal
del animalario.

www.secal.es

Foto Shutterstock

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



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

X Encuentro de la Red de Comités de Ética de Universidades y Organismos Públicos de Investigación

Carlos Costela Villodres

Director S.E.P.A. Universidad de Cádiz

En noviembre de 2002, hace ya 15 años, y con el impulso inestimable de Albert Royes, tuvo lugar en Sitges una primera reunión a la que tuvimos la suerte de asistir algunos de los miembros de comités de ética que veníamos trabajando de forma independiente y aislada en nuestras instituciones. Surgió allí la necesidad de intercambiar experiencias y fomentar el aprendizaje compartido en la evaluación de los proyectos de investigación, y se constituyó así la Red de Comités de Ética de Universidades y Organismos Públicos de Investigación (<http://www.ub.edu/rceue>).

En justicia, debemos agradecer a Albert Royes el mantenimiento de la red, organizando nuevos encuentros en Sitges en aquellos momentos en los que no había sede en la que poder celebrarlos, reactivando de esa manera estos grupos de trabajo para compartir formas de actuación que permitan enfrentarse a los desafíos éticos actuales.



Imagen suministrada por la autoría

Tras los encuentros de Murcia (2003), Granada (2004), Madrid (2005), Zaragoza (2006), Sitges (2008), Bilbao (2010), Madrid (2011) y Sitges (2014), los días 4 y 5 del pasado mes de mayo, tuvimos el orgullo de organizar en Cádiz el X Encuentro de la Red de

*Comités de Ética de Universidades y Organismos Públicos de Investigación*¹ que, de nuevo, fue un rotundo éxito en el cumplimiento de los objetivos de intercambio de pareceres y experiencias en el seno de esta red informal.

Este X Encuentro, organizado por la Universidad de Cádiz y el Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN) del CSIC, tuvo lugar en el Edificio Constitución de 1812 de la Universidad de Cádiz, con la asistencia de 65 miembros de Comités de Ética de toda España.

Las sesiones de trabajo consistentes en exposiciones y debate posterior, comenzaron departiendo sobre investigación con seres humanos, cuyos ponentes - Albert Royes (Comissió de Bioètica de la Universitat de Barcelona) y María Jesús Marcos (Comité de Ética de la Universidad del País Vasco) - pusieron sobre la mesa los nuevos retos a los que nos enfrentamos en relación a la investigación con menores de edad y la protección de datos de los mismos, y el problema de los trabajos de fin de grado en las instituciones académicas.



Imagen suministrada por la autoría

1. Podéis acceder a las presentaciones y al programa en el siguiente enlace:
http://pcsk138.icman.csic.es/X_Encuentro_RCE-Cadiz2017/index.htm

En la segunda sesión de trabajo, dedicada a la investigación con animales, Laura Barrios (Subcomité de Bioética del CSIC), nos aproximó de forma práctica al cálculo de tamaños muestrales en experimentación animal, en interés de la reducción del número de animales utilizados. Nos orientó también Lluís Montoliu (Comité de Ética del CSIC) sobre cómo se deben poner en perspectiva e interpretar las cifras estadísticas de utilización de animales en experimentación. La aplicación de la orden de formación para la capacitación del personal tuvo también su espacio en la ponencia de Mercedes Aceituno (Servicio de Formación del IFAPA), terminando con la problemática de la investigación animal con peces de interés en acuicultura a cargo de Rosa Vázquez (Comité de Bioética de la Universidad de Cádiz).

La sesión dedicada a terapias génicas y celulares a cargo de Pablo Menéndez (Fundació Josep Carreras) y Josep Santaló (Comissió d'Ètica en la Experimentació Animal i Humana de la Universitat Autònoma de Barcelona), versó sobre los aspectos regulatorios relacionados con el uso de células troncales humanas en investigación, así como sobre los problemas éticos de la edición genómica en relación con los modelos animales y la terapia génica en humanos.



Imagen suministrada por la autora

Por parte del Presidente de Colegio de Veterinarios de Cádiz, Federico Vilaplana, se nos presentó la visión del Colegio de Veterinarios sobre el bienestar animal, y Lluís Montoliu nos habló también acerca de la apuesta por la transparencia que ha supuesto el acuerdo lanzado desde la COSCE sobre el uso de animales en experimentación científica en España.

Todas las sesiones fueron de gran interés para los asistentes, tanto por la calidad de los ponentes, como por los contenidos de las exposiciones y por la posterior puesta en común de ideas y formas de actuación en los debates sucesivos.

Pero los encuentros de Comités de Ética que se vienen realizando se caracterizan, además, por la existencia de talleres de trabajo sobre diversos temas de actualidad relacionados con la ética en investigación. Durante este X Encuentro de la red de Comités de Ética en Cádiz, tuvieron lugar tres talleres en los que cada participante aportó sus conocimientos, experiencias y soluciones adoptadas, con una puesta en común final y la elaboración de un documento de consenso para cada uno de los mismos.



Imagen suministrada por la autora

El taller sobre formación en experimentación animal fue moderado por Jesús Martín Zúñiga (Comité Ético de Experimentación Animal de la Universidad de Granada) e intentó encontrar puntos consensuados en cuanto a la autorización de cursos de formación en las diferentes comunidades autónomas. Alberto Pastor (Oficina Evaluadora de Proyectos de la Universidad Miguel Hernández) moderó un segundo taller sobre la búsqueda de criterios comunes en la evaluación de proyectos y en la evaluación retrospectiva por los Órganos Habilitados. El seguimiento de los proyectos por parte de los comités de ética centró el trabajo del tercer taller del Encuentro, moderado por María Jesús Marcos (Comité de Ética de la Universidad del País Vasco).

Por último, en el X Encuentro, tuvimos una mesa redonda sobre el futuro, organización y gestión de la Red de Comités de Ética de Universidades y Organismos Públicos de Investigación. Tengo el placer de comunicaros que se decidió la necesidad de continuar organizando estos encuentros que tanto nos han aportado por el hecho de poder compartir las experiencias con otros Comités de Ética.

Ética y Legislación

Se decidió también la puesta en funcionamiento de un canal de comunicación continuo de todos los miembros de la red, mediante una lista de correo semejante a SECAL-L que, de hecho, ya estamos utilizando desde hace unas semanas.



Imagen suministrada por la autoría

No quiero dejar de agradecer a Rosario Moyano su propuesta para la realización del XI Encuentro de la Red de Comités de Ética de Universidades y Organismos Públicos de Investigación que tendrá lugar en la Universidad de Córdoba en noviembre de 2018.

Agradecer también a todos los miembros de SECAL asistentes al X Encuentro de Cádiz. Desde el Comité Organizador hemos intentado que disfrutais del propio desarrollo del Encuentro, de las relaciones interpersonales entre los asistentes, así como del entorno excelente de la ciudad de Cádiz. Espero que hayamos sido capaces de conseguirlo.

ESTAMOS
EN EL CENTRO DE
LA DIVULGACIÓN
CIENTÍFICA
EN HABLA
HISPANA

PAUTE CON NOSOTROS
SU EMPRESA TAMBIÉN PUEDE SER PARTE DE LA SECAL



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

www.secal.es



Su Colaborador para el Cuidado del Animal de Laboratorio

.....

- Gama Completa
- Innovación Continua

Lechos

Enriquecimiento

Dietas



Productos Certificados

DIN EN ISO 9001:2008 Y HACCP,
PEFC Certificado de Economía Forestal Sostenible, Cadena de Custodia y Trazabilidad,
DIN EN ISO 50001:2011 Sistema de Eficiencia Energética

LIGNOCEL®

ARBOCEL®

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



Fibras diseñadas
por la naturaleza
Una compañía del grupo JRS

Travesera de Gracia 56, 2º 2ª
08006 Barcelona

► ¡ Póngase en contacto
con nuestros expertos !

info@jrsiberica.com • Tel: 933 262 888

Aspectos importantes en el diseño de un animalario de vertebrados acuáticos

María del Rocío Morales Falcón

*Técnico Responsable Animalario en la Unidad de Vertebrados Acuáticos.
Centro Andaluz de Biología del Desarrollo. Centro mixto U. Pablo Olavide - CSIC*

El objetivo de este artículo es proporcionar la información básica necesaria para la puesta en marcha y posterior mantenimiento de un animalario para peces cebra y medaka, así como para el control de su bienestar animal.

De acuerdo con la legislación vigente, Real Decreto 53/2013, en el caso de las especies acuáticas hay que facilitar en todo momento un suministro adecuado de agua y de correcta calidad. El flujo de agua en los sistemas de recirculación o filtrado en los tanques debe ser suficiente para mantener los parámetros de calidad del agua en unos niveles aceptables. El agua suministrada debe filtrarse o tratarse a fin de eliminar las sustancias nocivas para los peces, cuando sea necesario. Los parámetros de calidad del agua deben situarse siempre dentro de la gama aceptable para la fisiología y la actividad normal de la especie considerada y su estadio de desarrollo. El flujo de agua debe ser adecuado para permitir a los peces nadar correctamente y mantener su comportamiento normal. Se debe conceder a los peces un tiempo adecuado para su aclimatación y adaptación a los cambios en las condiciones de la calidad del agua.

La concentración de oxígeno debe ser adecuada para las especies y el entorno en el que los peces se mantienen. Si resulta necesario, debe suplementarse la aireación del agua del tanque.

Deben mantenerse bajas las concentraciones de los compuestos nitrogenados.

El nivel de pH debe adaptarse a las necesidades de la especie y mantenerse lo más estable posible.

La salinidad debe adaptarse a las necesidades de la especie de que se trate y a la fase de la vida del animal. Cualquier cambio de salinidad debe realizarse de manera gradual.

La temperatura debe mantenerse dentro de la gama óptima

para la especie de que se trate y lo más estable posible. Cualquier cambio debe producirse de forma gradual. Debe proporcionarse a los peces un fotoperiodo adecuado.

El nivel de ruido debe reducirse al mínimo y, en la medida de lo posible, los aparatos que provocan ruido o vibraciones, como los generadores eléctricos o los sistemas de filtración, deben estar separados de los tanques donde se alojan los animales.

Los peces cebra son animales sociales que no forman jerarquías ni por lo general muestran agresividad entre ellos. Se deben mantener en grupos en acuarios desnudos con las siguientes características del medio (ver Tabla 1).

Tabla 1.- Características del medio para los peces cebra.

ILUMINACIÓN	Media tenue, fotoperiodo de doce a quince horas diarias de luz
TEMPERATURA DEL AGUA	25-28.5 °C
DUREZA	5-15
pH	6.8-7.5
CONDUCTIVIDAD	200-600 µS, variará según la especie

La densidad de ocupación debe basarse en la totalidad de las necesidades de los peces en lo que se refiere a las condiciones del entorno, la salud y el bienestar. Los peces deben disponer de un volumen de agua suficiente para que puedan nadar normalmente, teniendo en cuenta su tamaño, edad, estado de salud y el sistema de alimentación utilizado. Debe facilitarse a los peces un enriquecimiento ambiental adecuado, como lugares para esconderse o sustrato de fondo, a menos que sus pautas de comportamiento sugieran que no es necesario. No tendrían que haber más de 15 individuos adultos en jaulas de 3 litros, no más de 25 en jaulas de 5 litros y no más de 40 en jaulas de 11 litros.

Los peces deben tener una dieta adecuada (ver Tabla 2) y es importante controlar la cantidad y la frecuencia. Debe prestarse una atención especial a la alimentación de las larvas cuando se pasa de alimentos vivos a dietas artificiales. El manejo de los peces debe reducirse al mínimo posible.

Tabla 2.- Referencias de piensos y artemia.

TIPO DE DIETA	NOMBRE COMERCIAL	CASA COMERCIAL
Artemia	Salt Lake Aquafeed Premium artemia cysts. Origin: GSL Utah, USA. Hatching efficiency 230.000 npg	CATVIS BV/INVE AQUA
Pienso larvas pequeñas	MAR-75 GEMMA MICRO. MAR-150 GEMMA MICRO.	SKRETTING
Pienso alevines y adultos	Inicio plus G 0.4 e Inicio plus G 0.6, respectivamente.	BIOMAR
Escamas	Tetra PRO	AQUA SCHWARZ GmbH

IMPORTANCIA DE LA INFRAESTRUCTURA SEGÚN EL PROYECTO DE ESTUDIO. ORGANIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DEL ÁREA DESTINADA A LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

La Unidad de Experimentación Animal debe incluir las siguientes salas o zonas:

- Sala/s donde se alojan los animales de forma permanente. Estas salas tienen que estar diseñadas en función del tipo de animales almacenados y del riesgo que representan, y tiene que contar con las medidas de protección correspondientes.
- Sala/s de cuarentena, necesarias para la prevención de las posibles zoonosis.
- Laboratorio/s, donde se llevan a cabo los tratamientos, inoculaciones, intervenciones o necropsias. Uno de estos laboratorios debe estar equipado para la realización de experimentos quirúrgicos en condiciones asépticas. Es también aconsejable disponer de otro para periodos post operatorios.
- Zona de limpieza, para lavado de jaulas y material.
- Almacén y vestuario para el personal, que deben estar situados en una zona adyacente.

La señalización internacional de peligro biológico (ver Figura 1) se tiene que colocar siempre en las puertas de la Unidad de Experimentación Animal, independientemente del nivel de seguridad o confinamiento con el que trabajemos. En nuestro

caso trabajamos con nivel de confinamiento Tipo 1, aunque podríamos encontrarnos con proyectos que necesiten mayor nivel de confinamiento (hasta Tipo 4). A medida que avanzamos van aumentando los niveles de seguridad en lo que se refiere al personal, acceso, tareas, limpieza y descontaminación, y al control tanto de la infraestructura como de los organismos que la habitan.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Señal internacional de peligro biológico.

PRESENTACIÓN DEL ANIMALARIO DE VERTEBRADOS ACUÁTICOS DEL CENTRO ANDALUZ DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO (CABD)

El Animalario de Vertebrados Acuáticos del CABD tiene una capacidad aproximada para mantener unas 3.000 peceras y un total de aproximadamente 50.000 peces en un área superior a los 300 m². El servicio está formado por cuatro unidades individuales donde se alojan las diferentes especies, tales como pez cebra (*Danio rerio*), medaka (*Oryzia latipes*), *Xenopus laevis* y *Xenopus tropicalis*. En las diferentes unidades se alojan tanto líneas silvestres como transgénicas y mutantes, estos últimos sólo para el caso de *Danio rerio* y *Oryzia latipes*.

En el CABD también disponemos de un laboratorio asociado al animalario, la Plataforma de Vertebrados Acuáticos, desde donde se ofrecen servicios en experimentación genómica tanto a investigadores internos como externos (más información <https://www.upo.es/CABD/AquaticVertebratesPlatform/index.html>).

Instalaciones y equipamientos

En la actualidad, el animalario cuenta con 23 racks con 8 niveles para jaulas de 3 y 5 litros y 19 racks con 5 niveles para jaulas de cristal de 11 litros (ver Figuras 2-4). Además, cuenta con dos racks de 3 niveles para *Xenopus laevis* y 1 rack de 8 niveles para *Xenopus tropicalis*. Y por último, para medaka cuenta con 4 racks de 8 niveles para jaulas de 3 y 5 litros y 2 racks de 5 niveles para jaulas de cristal de 18 litros. Todos nuestros racks están formados por sistemas de circulación cerrada de agua, que proviene de tanques que se llenan a través de sistemas de ósmosis inversa.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Ejemplo de instalaciones de pez cebra y medaka.

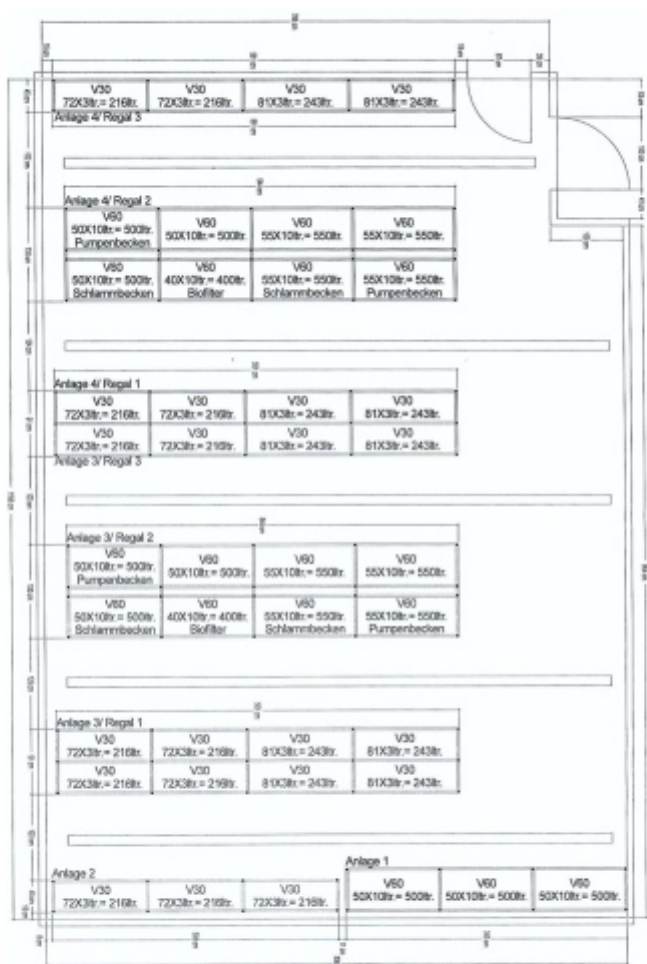


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Sala de grandes dimensiones.

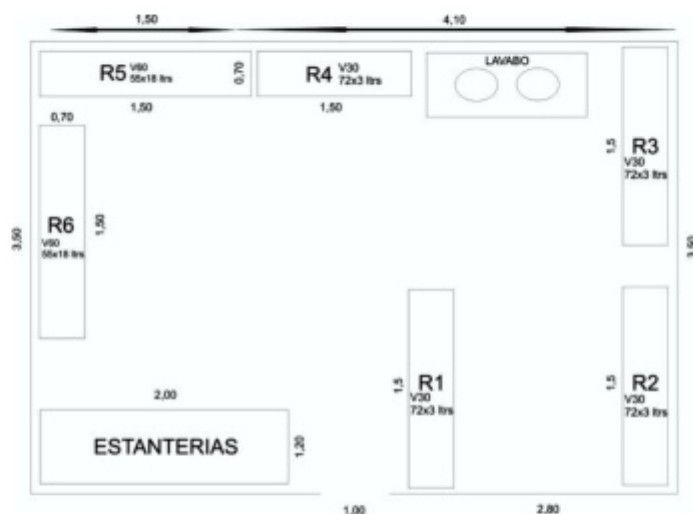


Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Sala de pequeña dimensión.

FACTORES A TENER EN CUENTA DURANTE EL DISEÑO DE UN ANIMALARIO

Cuando diseñamos un animalario, tenemos que pensar primero de todo en los animales que alojaremos y en los proyectos que se realizarán, así como en las posibles ampliaciones que se puedan necesitar llegado el momento, ya que son bastante frecuentes. Se suelen diseñar animalarios de pequeñas dimensiones que en un periodo de tiempo bastante corto quedan obsoletos, por este motivo, el control del número de animales es fundamental para evitar tener un exceso de animales y que el animalario quede pequeño. Es importante controlar desde un principio el número de cruces para mantenerlos al mínimo necesario para conseguir nuestros objetivos.

Estos “pequeños animalarios” tienen una ventaja bastante importante, bajo mi punto de vista: los sistemas que suelen formar parte de ellos (al menos en nuestro caso) son racks independientes unos de otros, por lo que a la hora de madurarlos resulta mucho más fácil y rápido. Todo lo contrario ocurre con los sistemas que están formados por varios racks. A la hora de controlar los parámetros ambientales es mucho más cómodo hacerlo en racks independientes que en racks comunicados, ya que el porcentaje de renovación de agua para racks maduros (aproximadamente 5% en todos los casos) es muy pequeño en comparación a cuando tenemos varios racks unidos, por lo que todos los parámetros tales como nitratos, nitritos y amonios se ven poco afectados y rápidamente alcanzan sus niveles óptimos. Sin embargo, en los grandes sistemas es bastante más complicado

alcanzar estos niveles óptimos y son necesarios controles diarios durante más tiempo que en los racks independientes.

En contra, los racks independientes son bastantes más caros que los racks que forman parte de sistemas comunicados, ya que deben ir provistos de lámparas UVA, filtros mecánicos, bombas, calentadores, pH-metros, conductímetros, filtros de carbono, etc. Mientras que en los racks comunicados, el coste de estos dispositivos (obligatorios siempre) se abarata, ya que con varios dispositivos de cada tipo controlamos un gran número de racks.

Podemos abaratar los costes de los racks independientes, si en lugar de tener racks que vienen provistos de todos y cada uno de los dispositivos obligatorios preparamos en una antesala el agua que va a llegar a nuestros animales. Para ello, debemos tener una sala anexa en la que montar un tanque del que se surtirán de agua todos los racks de nuestro animalario. Estos tanques deben tener capacidad suficiente para poder atender a los cambios automáticos de cada rack, más el número de litros que dentro de cada animalario necesitamos para el trabajo diario. El agua que llega a estos tanques pasa por un sistema de ósmosis inversa, en el que se encuentran los filtros de carbono, los filtros de partículas y las membranas necesarios en el proceso de preparación del agua. No obstante, en cada rack sí tienen que ir lámparas UVA, calentadores, pH-metros y conductímetros. Todo lo explicado es para salas donde tenemos pocos racks y éstos trabajan de manera independiente.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 5.- Equipo de ósmosis inversa para grandes salas.

Cuando trabajamos en salas con muchos racks (y en su mayoría, comunicados entre sí), además de grandes sistemas de ósmosis inversa (ver Figura 5) que preparan el agua antes de que llegue a los animales, debemos tener en cada sistema lámparas UVA, filtros de partículas y filtros de carbono que sigan formando parte del control de parámetros, porque aunque en estos sistemas no es fácil que perdamos el equilibrio, sí es necesario un control mucho más exhaustivo de todos sus parámetros. Múltiples factores como que saquemos más agua de lo normal, que sustituyamos peces adultos por alevines... pueden hacer que nuestro rack pierda su equilibrio y que los animales comiencen a estresarse, y si no se pone remedio, incluso a morir.

Desde el punto de vista de las enfermedades en peces y ranas cabe remarcar que es mucho más difícil que enfermen en racks individuales que en racks comunicados. Esto es debido a que estos últimos, al tener muchos cambios de agua, muchos tipos de animales (en cuanto a la edad), un mayor trasiego diario tanto de cruces como de limpieza y, sobre todo, al estar comunicados entre sí, hacen que los individuos que forman parte de ellos se estresen con mayor frecuencia, y si este estrés no es remediado lleguen a enfermar y pasarlo tanto a sus compañeros de jaula como a los racks vecinos. Por todo esto, los racks comunicados que forman parte de los grandes sistemas deben tener controles mucho más exhaustivos y estrictos que los racks individuales.

PARÁMETROS A CONTROLAR

En cuanto al control de los parámetros necesarios, tanto para la puesta en marcha de un animalario para organismos acuáticos como para su posterior mantenimiento y control del bienestar animal, es clave tener en cuenta los siguientes puntos:

Cambios de agua

El filtrado de agua no puede sustituir a los cambios de agua, que se deben realizar por dos motivos:

- *Acumulación de nitratos.* Aunque a baja concentración no resultan nocivos para los peces, a concentración elevada podrían ser tóxicos.
- *Acumulación de todo tipo de sales procedentes de los excrementos y de los restos de comida en descomposición.* El agua acaba convirtiéndose en una "sopa salina". Como este proceso se produce poco a poco, el medio interno de los peces se va adaptando a esta concentración salina sin que aparentemente los perjudique. El problema surge

Panorama

cuando se hace un cambio importante de agua y la salinidad varía bruscamente, entonces se produce un choque osmótico que puede provocar la muerte o hacer que los peces enfermen.

Los cambios de agua periódicos evitan que se produzca esta situación. Para evitar choques osmóticos y variaciones bruscas de pH y temperatura hay que hacer cambios progresivos, pequeños cambios parciales de agua diarios. Jamás hay que cambiar toda el agua de una sola vez.

La proporción ideal para los cambios de agua diarios de un sistema ronda el 5-10% (mejor 5% que 10%). La proporción de cambio depende del sistema, del tamaño y edad de los peces..., hay que jugar con estos valores en función de las características fisiológicas de nuestra especie.

Maduración de un sistema

Para que los filtros biológicos de un sistema maduren correctamente debemos:

- Realizar cambios de agua en torno al 40% durante una semana y tener el agua circulando continuamente.
- Meter peces adultos en el sistema para que aporten bacterias nitrificantes a través de sus excrementos y los restos de comida. Al cabo de un tiempo harán que el ciclo de bacterias nitrificantes sea el correcto; de esta manera irán desapareciendo amonios y nitritos y aparecerán nitratos. Seguir realizando cambios del 40%.
- A partir de la segunda semana con peces dentro del sistema se baja el porcentaje de cambios diarios hasta conseguir aproximadamente que en uno o dos meses nuestro sistema madure y lleguemos al 5% ideal.

Es importante medir diariamente los niveles de nitritos, amonio y nitratos (ver Tabla 3). Una vez el sistema esté estable, las mediciones se harán semanalmente, y mensualmente cuando esté maduro.

Tabla 3.- Registro de los niveles de pH, amonio, nitrito y nitrato de los acuarios.

FECHA	HORA	NOMBRE	ORGANISMO	pH	AMONIO	NITRITO	NITRATO	OBSERVACIONES

Procedimientos diarios

- Revisar el estado de los individuos, que no tengan un comportamiento anómalo y que el aspecto sea saludable.
- Revisar que las tapaderas de los acuarios estén bien cerradas y que las rejillas no estén atascadas.
- Comprobar que el flujo de agua que llega a los acuarios sea el adecuado.
- Retirar los restos de comida que queden en los acuarios.
- Revisar los parámetros (ver Tabla 4): sales 400-600 μ S (para pez cebra) y 200-400 μ S (para medakas), pH 6,5-7,5 y temperatura 26-28 °C (doble control).

Tabla 4.- Registro de sales, pH y temperatura.

	SALES (μ S)	pH	T (°C)	MODIFICACIONES EN TANQUES
X. laevis				
X. tropicalisZ.				
Fish N°1				
Z. Fish N°2				
Z. Fish N°3				
Sistema 1				
Sistema 2				
Sistema 3				
Sistema 4				
Aquamedic Medakas				
Rack 1 Medakas				
Rack 2 Medakas				

- Comprobar que los filtros no estén atascados.
- Revisar que la lámpara UVA tenga la intensidad suficiente.
- Comprobar las llaves de paso y anotar los valores de los contadores de agua (ver Figura 6) para la posterior adición de sales a los tanques según los litros consumidos por los sistemas hasta ese momento (ver Tabla 5).



Imagen suministrada por la autora

Figura 6.- Llaves de paso y contadores de control de agua.

Tabla 5.- Registro de sales añadidas a los tanques

	VOL. 8 H	DIFERENCIA	VOL. 14 H	DIFERENCIA
Sistema 1				
Sistema 2				
Sistema 3				
Sistema 4				
TOTAL				

Procedimientos semanales

- Cambiar los individuos a acuarios limpios.
- Revisar que la programación del intercambio de agua sea la adecuada.
- Comprobar que los valores indicados de temperatura sean los reales.
- Calibrar los medidores de pH y salinidad.

- Revisar la presión de los filtros del aparato productor de agua.
- Revisar que los temporizadores no se hayan modificado en la programación.
- Comprobar que el aire funcione correctamente.
- Cambiar los acuarios más sucios.
- Revisar los individuos. No alimentar si ha habido bajas.

Procedimientos mensuales

- Medir los niveles de amonio, nitrito y nitrato.
- Inventariar el material de limpieza, filtros, redes...

Procedimientos anuales

- Sustituir parte de los filtros de bacterias.
- Sustituir la lámpara UVA.
- Sustituir los filtros del aire acondicionado.
- Limpieza general de la habitación, incluyendo acuario, material, poyata, pared...

CONDICIONES DE BIENESTAR PARA LOS ANUROS (ver Tabla 6 y Figura 7)

Tabla 6.- Condiciones de bienestar para los Anuros.

LONGITUD CORPORAL (cm)	SUPERFICIE MÍNIMA DE AGUA (cm ²)	SUPERFICIE MÍNIMA DE AGUA POR ANIMAL ADICIONAL (cm ²)	PROFUNDIDAD MÍNIMA DE AGUA (cm)
<6	160	40	6
6-9	300	75	8
9-12	600	150	10
>12	920	230	12.5



Imagen suministrada por la autora

Figura 7.- Jaulas *X. laevis* (izquierda) y Jaulas *X. tropicalis* (derecha).

CONTRATACIÓN DE PERSONAL. CATEGORÍAS NECESARIAS PARA TRABAJAR EN EXPERIMENTACIÓN ANIMAL (SEGÚN NORMATIVA DE LA CONSEJERÍA DE AGRICULTURA Y PESCA DE LA JUNTA DE ANDALUCÍA)

Cuando trabajamos con animales de experimentación es muy importante tener en cuenta el personal que se encarga de su cuidado básico y del control del bienestar de éstos, ya que cuando se trabaja con *Danio rerio* y *Oryzia latipe* se les tiene que alimentar diariamente, incluyendo los fines de semana y festivos.

Un indicativo de que los peces están bien alimentados es que sus puestas sean buenas, de lo contrario dejan de poner rápidamente. Cuando se trabaja con embriones, como es nuestro caso, este punto es fundamental.

Los peces deben comer un mínimo de 5 veces al día, por lo que si no disponemos de sistemas de alimentación automática (que encarecen aún más los costes) tenemos que contratar como mínimo:

- Tres personas para los animalarios pequeños. Dos de ellas se encargan de alimentar y realizar las tareas de control los días laborables y una tercera para esas mismas tareas los fines de semana y días festivos.
- Entre 4-5 personas para animalarios de mayor tamaño, como es el caso de nuestro centro, dejando siempre una persona para los fines de semana y festivos.

BIBLIOGRAFÍA

- [http://www.cytel.org/sites/default/files/Catalogo_Eulalia_Moreno_\(Instalaciones_Experimentacion_Animal_RRNN_CSIC_ESPANA\).pdf](http://www.cytel.org/sites/default/files/Catalogo_Eulalia_Moreno_(Instalaciones_Experimentacion_Animal_RRNN_CSIC_ESPANA).pdf)
- INSTRUMENTO de 2.8.1989 (Jef. Estado BOE 18.10.1989). Ratificación del Convenio Europeo sobre protección de los animales vertebrados utilizados con fines experimentales y otros fines científicos, hecho en Estrasburgo el 18.3.1986.
- ORDEN de 3.10.1989 (M. Agricultura, Pesca y Alimentación BOE 18.10.1989). Establece las normas de registro de los establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales de experimentación de titularidad estatal, así como las de autorizaciones para el empleo de animales en experimentos, en desarrollo del RD 223/1988.
- 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. BOE núm. 34. Febrero 2013. ANEXO II.

PUBLICA TUS
ARTÍCULOS EN
NUESTRA REVISTA.
CONTÁCTANOS.

www.secal.es



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

No te esfuerzas como deberías



Imagen suministrada por la autoría

Javier Fidalgo Fernández
Experto en Desarrollo directivo en
www.areadeliderazgo.com

Tiene que haber una relación entre la cantidad de libros de autoayuda que todavía se venden y muchos de los cursos para directivos que, también, se siguen comprando.

Creo que algo común a ambos es la promesa de conseguir algo deseado, pero que se resiste a ser conseguido, sin esfuerzo.

Quisiera convertirme en un líder. Necesito que mi equipo esté motivado, incluyendo a estos *millenials* que no hay quien entienda. Se me exige que la gente se comprometa con la organización. No sé cómo hacerlo y este libro delgadillo, de fácil lectura, o este *workshop* breve - para mí que ando, como todos, escaso de tiempo - me prometen que lo lograré. Sin esfuerzo, casi sin enterarme.

Mentira.

Si tu equipo no te considera alguien a quién seguir y sientes que sólo te hace caso porque les firmas las vacaciones, o está desmotivado o, quizás, poco comprometido, es porque no te estás esforzando lo suficiente. O lo estás haciendo pero no en la "buena dirección".

Ella- Acaba de ser ascendida a un puesto de alta dirección y nos cuenta que en su organización, lo normal es que si un directivo quiere hablar con un empleado, sea este último el que vaya a su despacho. No importa la distancia que les separe ni las circunstancias personales. Así es como debe ser.

Había concertado una reunión con dos personas y tuvo que cancelarla. Ahora considera que es ella la que irá al lugar donde ellos trabajan. Tiene poco tiempo y le vendría mucho mejor que fueran ellos los que se acercasen a su despacho, pero considera que lo correcto es que sea ella la que se desplace. En contra de la cultura de la organización.

Factor Humano

Así, con esfuerzo, demostrará con hechos que les respeta. Respeto que, al cabo de cierto tiempo, generará un reconocimiento de autoridad que, a su vez, construirá, eventualmente, una relación de liderazgo. Liderazgo al que se unirá el tan deseado compromiso con la organización, en este caso a través de ella, su jefa.

Él- Es directivo en España de una multinacional. Bajo su responsabilidad están los resultados de la región Centro y Norte de España, también Canarias.

Se encuentra en la máquina del café con un compañero, Director de la región de Levante, quien le dice:

- *Compañero:* Este año no alcanzamos los objetivos de venta en mi región. ¿Tú que tal?
- *Él:* Bien, creo que los cumpliremos.
- *Compañero:* ¡Qué suerte! Me alegro.
- *Él, que es poco dado a hablar de sí mismo, no puede reprimirse:* ¿Suerte? De suerte, nada.

De suerte nada, porque visita cada centro de producción todos los meses, lo que supone, claro, una saturada agenda de viajes.

Las "malas noticias" las comunica cara a cara. Como cuando la empresa tuvo que suprimir el bono anual que, aunque su gente no tenía derecho, llevaban años cobrando. Podría haber comunicado la noticia por correo electrónico, como hacen otros, pero fue a decírsela a la cara. Porque la medida quizás era necesaria y además justa, pero era un "tortazo" y él entendía que, como director, debía mostrar a sus colaboradores que entendía su enfado aunque tuviera que defender el recorte.

La mala noticia no se puede cambiar, pero la forma de tratar a los *afectados* transmite a éstos que les respeta y comprende.

No es sorprendente, ni desde luego tiene que ver con la suerte, que en las mediciones periódicas que hace la empresa, el compromiso y la motivación de sus colaboradores se revelen muy altos. Y que esto se traduzca en una mayor implicación en el trabajo y, claro, en mejores resultados económicos.

No hay suerte. Ni magia. Sólo esfuerzo bien dirigido.

Suerte es tener la sensación de estar esforzándose mucho, pero muy poco en la "buena dirección", y que todavía te sigan pagando una abultada nómina y coche de empresa.

Ella y él son reales. Las dos situaciones descritas, protagonizadas por ellos, también.

Si piensas que el respeto, la autoridad, el liderazgo, la motivación, el compromiso y las ventas que se derivan de todos ellos, se consiguen sin esfuerzo, sirviéndose de intermediarios mágicos, sean libritos o *cursetes*, vas dado.

Aunque siempre puedes dar gracias por la suerte que tienes y rezar para que no se acabe.

A close-up photograph of two scientists in a laboratory setting. They are both wearing white lab coats, hairnets, and face masks. The scientist on the left is also wearing glasses and white gloves. They are focused on a small black mouse that is being held in a blue petri dish. The background is blurred, showing other lab equipment.

Todo lo que
necesita saber

www.secal.es

Foto Shutterstock

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

SECAL sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

Lara Sedó Cabezón

Técnico de la Unitat d'Experimentació Animal de Psicologia de los Centres Científics i Tecnològics de la Universitat de Barcelona (CCiTUB). Editora de estilo e imagen de la revista *Animales de Laboratorio*.

¿Desde cuándo eres socia de SECAL y qué opinión te deja nuestro colectivo?

Soy socia de SECAL desde el 2009. En 2008, me incorporé a trabajar como técnico en la Unitat d'Experimentació Animal de Bellvitge y fue entonces cuando conocí a la SECAL.

Para mí, entrar a formar parte de SECAL significó que se me abrieran las puertas a un mundo tan complejo e interesante como es la Ciencia del Animal de Laboratorio. Gracias a SECAL, me he ido formando y especializando en este ámbito.

¿Cuál es tu experiencia dentro del ámbito del animal de experimentación?

Mi experiencia en el ámbito del animal de experimentación se remonta al año 2006 cuando, siendo estudiante de la licenciatura de Biología, entré como becaria en la Unitat d'Experimentació Animal de Farmacia. Allí, conocí a Teresa Rodrigo, quien me introdujo por primera vez en este mundo.

Al finalizar la carrera realicé el máster en Neurociencias y fue entonces cuando me ofrecieron entrar a trabajar como técnico en la Unitat d'Experimentació Animal de Bellvitge, compaginado mis dos grandes pasiones: las Neurociencias y la Ciencia del Animal de Laboratorio.

En 2011, mientras realizaba el doctorado en Biomedicina estudiando la patología vestibular en rata, me incorporé como técnico en la Unitat d'Experimentació Animal de Psicologia, volviendo a coincidir con Teresa Rodrigo.

La ototoxicidad es una de las principales causas de la pérdida auditiva y del equilibrio en los seres humanos, ¿algún modelo animal para estudiarla?



Imagen suministrada por la autora

Sí, como bien comentas, la ototoxicidad, concretamente la toxicidad de algunos fármacos, es una de las causas de pérdida auditiva y de función vestibular en humanos. Los fármacos ototóxicos pueden causar daño tanto en el sistema vestibular como en el sistema auditivo. No obstante, es importante tener presente que la investigación que se lleva a cabo en uno de los sistemas puede no ser válida para el otro. Mientras que los componentes celulares y moleculares son parecidos en los dos sistemas, existen diferencias muy importantes. La cantidad de información disponible para la toxicidad auditiva es muy superior a la disponible para la toxicidad vestibular, y muchas cuestiones que se han investigado en cóclea siguen inexploradas en el sistema vestibular.

La investigación experimental en el campo del daño ototóxico se ha centrado en fármacos de importancia clínica,

como los aminoglucósidos y los quimioterapéuticos –cisplatino–. Datos de los huesos temporales de los pacientes expuestos a estos fármacos indican que las células ciliadas son la principal diana, y que la principal pérdida de audición o equilibrio después de la exposición a estos compuestos está asociada con la pérdida de las células ciliadas.

Diversos nitrilos muestran un patrón de efectos ototóxicos que se puede etiquetar como “clásico”, es decir, parecido al de los antibióticos aminoglucósidos. Esto incluye la aparente selectividad para las células ciliadas, la afectación tanto del sistema auditivo como del vestibular y la progresión de la degeneración. Por este motivo, el modelo animal que nuestro grupo utilizó para estudiar la patología vestibular y su reparación fue la administración subcrónica del nitrilo IDPN en el agua de bebida en rata para inducirles la ototoxicidad y así, poder estudiar las bases moleculares de ésta.

En los tratamientos actuales para la ototoxicidad, ¿es peor el remedio que la enfermedad?

El propósito de los tratamientos actuales para el vértigo es controlar la causa de la crisis de vértigo, reducir la discapacidad funcional y mejorar la calidad de vida de los pacientes, pero hay pocas opciones terapéuticas. Únicamente existen maniobras de reposicionamiento, la cirugía y la farmacología que se acompaña de diversos efectos secundarios. Entre los agentes farmacológicos disponibles se pueden encontrar compuestos focalizados en los canales iónicos y los receptores de neurotransmisores y neuromoduladores implicados en los trastornos vestibulares.

A pesar de la importancia que tienen las células ciliadas, actualmente no existe un tratamiento del daño debido a la dificultad de acceder al oído interno, ya que se encuentra situado en el interior del cráneo. Existen dos alternativas de administración local de los fármacos: administración intratimpánica y administración intracoclear. Cualquier fármaco que se utilice por vía sistémica tiene que atravesar la barrera hematococlear, que es funcionalmente y anatómicamente similar a la barrera hematoencefálica.

Cambiando de tercio, ¿cómo llegaste al grupo editor de la Revista Animales de Laboratorio de la SECAL?

A raíz de volver a trabajar con Teresa Rodrigo descubrí el mundillo de la revista y fue ella quien me motivó para que en 2013 entrara a formar parte, como editora de estilo e imagen, de esta revista.

Sabemos que tienes experiencia en publicaciones científicas en revistas de impacto. ¿Crees que podemos adoptar algo de este tipo de publicaciones para nuestra revista?

En los últimos años la revista se ha ido renovado y ampliado su contenido con múltiples secciones de interés, haciendo de la revista una potente arma de divulgación científica, que a mi parecer nada tiene que envidiar a las revistas indexadas.

¿Una anécdota dentro de tú trabajo en el grupo editor?

En estos momentos no me viene a la memoria ninguna anécdota relacionada con el grupo editor, pero sí que recuerdo los buenos momentos pasados revisando los artículos, montando las imágenes y dándoles formato. No hay mayor recompensa que la que todos los socios de SECAL puedan disfrutar de la revista.

Lara Sedó
Cabezón



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

