

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

ANIMALES DE LABORATORIO

Verano 2017. Número 74

XIV Congreso Nacional
Sociedad Española
para las
Ciencias del Animal
de Laboratorio



Del 13 al 16
de junio de 2017
Palacio de Congresos
de Canarias
Alfredo Kraus
Las Palmas de Gran Canaria

"Avances científicos en
los animales
para la salud global"



www.secal2017.com



+++
ENVIGO

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.

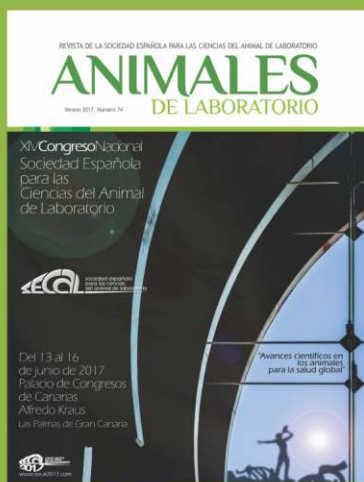
Download Advances in immunodeficient models white paper at envigo.com/shrn-paper



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 Cabezón

PUBLICIDAD

David Mayo
publicidad.revista@secal.es

FOTO DE PORTADA

Suministrada por Secal

DISEÑO Y MAQUETACIÓN

CONEXION E.P.

clientes@agenciaconexion.com.co

IMPRIME

LCS REPROGRAF

DEPÓSITO LEGAL

M-1362-1999

Responsables Secciones



NOTICIAS SECAL ACTUALIDAD
Cristina Gerbolés Freixas
kgerboles@gmail.com



TÉCNICAS
María Granada Picazo
mgpicazo@sescam.jccm.es



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



¿Y TÚ QUÉ OPINAS?
José Luis Martín Barrasa
jlmbarrasa@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)
Hernan 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
ZONLAB GmbH
ANIMALARIA FORMACIÓN y GESTIÓN, S.L.
SODISPAN RESEARCH, S.L.
COL.OFI. 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*

SECAL sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

Con la colaboración de SECAL



Animalaria

Formación y Gestión S.L.

www.animalaria.org Tel.699921930

EDITORIAL

9 ACTUALIDAD

- Un falso vientre mantiene vivos a los corderos prematuros.
- Los resultados de estudios con ratones pueden estar afectados sustancialmente por la forma en que se manipulan los animales.
- El 3Rs-Center Utrecht Life Sciences contribuye al refinamiento de experimentos con pez cebra.

14 NOTICIAS

- XIV Congreso SECAL - Las Palmas de Gran Canaria.
- Entrevista a José Gilberto Moreno, Director del Museo Elder de la Ciencia y Tecnología de Las Palmas de Gran Canaria.

30 ARTÍCULOS

- La fecundación *in vitro* en el ratón de laboratorio.
- Guía práctica para la implementación de la Directiva 2010/63 aplicada a los animales genéticamente alterados.

53 ÉTICA Y LEGISLACIÓN

- Conflictos laborales. Soluciones legales a las peleas entre compañeros de trabajo.

56 SEGURIDAD EN 5 MINUTOS

- Contratas de personal o 'outsourcing'. ¿Qué debemos considerar desde el punto de vista de la prevención de riesgos laborales?

59 PANORAMA

- Construir una sala de contención biológica: dos and dongs.

68 ALCUIDADO

- Yo, CRO.

39





Foto: shutterstock

Un modelo al lado de los humanos

ESTA RATONA Y SUS FETOS POR NACER, DISMINUYERON LA CARGA DE VIRUS ZIKA EN TEJIDOS MATERNOS Y FETALES, Y SE PROTEGIERON CONTRA LA MUERTE FETAL.

Un equipo de investigadores del Imperial College de Londres y de la Universidad Washington de St Louis (EE.UU.), ha demostrado que anticuerpos obtenidos de pacientes humanos infectados con el virus del Dengue pueden ser efectivos en el tratamiento de la infección del zika en ratones.

Puerta 74

Hemos llegado a un nuevo número de nuestra Revista *Animales de Laboratorio*, en el que incluimos como siempre interesantes artículos, y hacemos especial reconocimiento a nuestro pasado congreso de la SECAL en la grandiosa Las Palmas de Gran Canaria.

Sin embargo, en esta oportunidad quiero aprovechar para despedir a la Dra. Teresa Rodrigo Calduch, la "Tere", quién desde el primer año que asumió las nuevas y desafiantes responsabilidades de la revista nos ha demostrado y enseñado el valor del compromiso y responsabilidad en este tipo de actividades "lúdicas".

Un líder es el que con sus conocimientos y con su manera de comunicarse con los demás es capaz de tomar decisiones, aprovechando y reconociendo las capacidades de los demás incluso si están por encima de las suyas propias, sin sentirse fuera de lugar y, en definitiva, dejando trabajar. Gracias a esto, bajo tu dirección dejaste nuestra publicación en un momento muy favorable de su desarrollo, no sólo respecto del prestigio ganado, sino además porque genera interés tanto en nuestros socios lectores como en el ámbito general del animal de laboratorio.

Puntos, comas, tildes, cursivas, sangrías, comillas, espacios y las 4 a 6 revisiones de rigor, te echaremos de menos; aun siendo mejor lo que viene, no será lo mismo.

Un líder, o un director si se quiere, que dijo un día "... una vez pases la puerta de entrada, ya debes ir buscando la puerta de salida", y la salida 74 era la tuya.

Gracias totales.

Hernán Serna

Subdirector de la Revista *Animales de Laboratorio*





INSTRUMENTACIÓN E INSTALACIONES CIENTÍFICAS

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

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



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



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



CLARUS™ C

- SAS Biológicos
- Salas hasta 350 m³
- Racks Ventilados
- Aisladores
- Lava-racks



CLARUS™ L

- Racks Ventilados
- Aisladores
- Incubadores de CO₂
- Lava-racks



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

Esterilizadores a Vapor STERIVAP HP IL, VAKULAB, UNISTERI



Un falso vientre mantiene vivos a los corderos prematuros

Un dispositivo similar al vientre materno podría reducir la mortalidad y la discapacidad de los bebés extremadamente prematuros, imitando el ambiente lleno de líquido prenatal para dar a los recién nacidos más pequeños unas preciosas semanas para desarrollar los pulmones y otros órganos.

“La idea de tratar a los prematuros en las incubadoras llenas de líquido puede sonar extraño, pero fisiológicamente tiene sentido” dice la Dra. Catherine Spong, especialista en medicina fetal.

« Un ambiente único parecido a un útero diseñado por investigadores pediátricos podría transformar el cuidado de bebés extremadamente prematuros. »

En estudios con animales, los investigadores han diseñado un entorno lleno de fluidos para pasar el tiempo crítico desde el vientre de la madre al mundo exterior. Han probado y monitorizado los efectos en corderos fetales, en los que el desarrollo pulmonar prenatal es muy similar al de los seres humanos.

El innovador sistema utiliza un único contenedor lleno de fluido unido a las máquinas personalizadas que proporcionan apoyo fisiológico. Los corderos fetales crecen en un ambiente casi estéril controlado por la temperatura, respirando el líquido amniótico como hacen normalmente en el útero, y sus corazones bombean sangre a través de su cordón umbilical en una máquina de intercambio de gas fuera de la bolsa. Los monitores miden los signos vitales, el flujo sanguíneo y otras funciones cruciales.

En las primeras pruebas en animales, los corderos extremadamente prematuros crecieron, con aparente normalidad, dentro del sistema durante tres o cuatro semanas.

Los investigadores descubrieron que los corderos con una edad gestacional equivalente a la de un feto humano de 23-24 semanas de edad tenían un desarrollo normal de pulmón y cerebro después de un mes en el útero artificial. Según Alan Flake, coautor del estudio, “un dispositivo similar podría estar listo para su uso en bebés humanos prematuros en tres a cinco años si se

realizan pruebas adicionales en animales”.

“Nuestro sistema podría prevenir la morbilidad severa sufrida por los bebés extremadamente prematuros potencialmente ofreciendo una tecnología médica que no existe actualmente”, dice el líder del estudio Alan W. Flake, cirujano fetal y director del Centro de Investigación Fetal en el Centro para el Diagnóstico y Tratamiento Fetal en el Hospital Infantil de Filadelfia. “Estamos tratando de extender la gestación normal”, añade.

Cada vez más hospitales tratan de salvar a los bebés prematuros más críticos, los nacidos antes de las 26 semanas de gestación e incluso los que están en los límites de viabilidad (22-23 semanas). La prematura extrema es una de las principales causas de mortalidad infantil, y los que sobreviven frecuentemente tienen discapacidades graves como la parálisis cerebral.

Las prácticas de cuidado neonatal han mejorado la supervivencia general de los bebés prematuros y han subido los límites de viabilidad a 22-23 semanas de gestación. A esa edad, un bebé pesa menos de 600 gramos y tiene un 30-50 por ciento de posibilidades de sobrevivir. Pero esta supervivencia tiene un 90 por ciento de riesgo de morbilidad, de enfermedad pulmonar crónica u otras complicaciones de la inmadurez de los órganos. Los supervivientes se enfrentan a discapacidad de por vida.

“Estos niños tienen una necesidad urgente de un puente entre el vientre de la madre y el mundo exterior. Si podemos desarrollar un sistema extra-uterino para apoyar el crecimiento y la maduración de órganos por sólo unas pocas semanas, podemos mejorar los resultados de los bebés extremadamente prematuros”, dice Flake. El objetivo es apoyar a los bebés de 23 a 28 semanas de edad gestacional. A las 28 semanas cruzan el umbral lejos de los resultados más graves.

El sistema imita la vida en el útero de la manera más cercana posible, aprovechando los conocimientos de la investigación neonatal previa. No hay una bomba externa para impulsar la circulación, porque incluso una presión artificial suave puede sobrecargar fatalmente un corazón subdesarrollado, y no hay ventilador, porque los pulmones inmaduros aún no están listos para hacer su trabajo de respirar el oxígeno atmosférico. En cambio, el corazón del bebé bombea sangre a través del cordón umbilical al

oxigenador externo de baja resistencia del sistema que sustituye a la placenta de la madre en el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono.

Además, el líquido amniótico, producido en el laboratorio, fluye dentro y fuera de la bolsa. "Los pulmones fetales están diseñados para funcionar en fluidos, y simulamos ese ambiente aquí, permitiendo que los pulmones y otros órganos se desarrollen, al mismo tiempo que aportan nutrientes y factores de crecimiento", dice el fisiólogo fetal Marcus G. Davey, quien diseñó el sistema.

El equipo del programa reúne a una amplia gama de expertos, incluyendo neonatólogos, especialistas en medicina fetal y terapeutas respiratorios.

La versión de Flake del dispositivo puede no ser factible para los bebés humanos por varias razones técnicas. Una barrera es que el sistema requiere una cirugía fetal delicada para conectar el cordón umbilical a la incubadora mientras el bebé todavía está unido a la madre. Pocos hospitales están equipados para realizar una operación de este tipo.

Los investigadores continuarán evaluando y refinando el sistema, y necesitarán reducirlo para los bebés humanos, que son un tercio del tamaño de los corderos usados en el estudio actual.

Flake subraya que el equipo no pretende extender la viabilidad a un período anterior a la marca actual de 23 semanas. Antes de ese punto, las limitaciones del tamaño físico y el funcionamiento fisiológico impondrían riesgos inaceptablemente altos. Sin embargo, añade que "este sistema es potencialmente muy superior a lo que los hospitales pueden hacer actualmente para un bebé de 23 semanas nacido en la cúspide de viabilidad. Esto podría establecer un nuevo estándar de atención para este subconjunto de prematuros extremos".

BIBLIOGRAFÍA

- <https://www.sciencedaily.com/releases/2017/04/170425110807.htm>
- <http://www.cbc.ca/news/health/womb-artificial-1.4085545>
- <https://www.sciencenews.org/article/faux-womb-keeps-preemie-lambs-alive>
- Partridge E.A., Davey M.G., Hornick M.A., et al. *An extra-uterine system to physiologically support the extreme premature lamb*. Nature Communications 2017, 8:15112. DOI: 10.1038/ncomms15112.



**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

Los resultados de estudios con ratones pueden estar afectados sustancialmente por la forma en que se manipulan los animales

Un nuevo estudio muestra que la manera en que los ratones son manipulados por el experimentador puede cambiar sustancialmente su comportamiento en las pruebas cognitivas.

«La manipulación de animales de laboratorio durante los procedimientos es una fuente importante de estrés que puede perjudicar la fiabilidad de las respuestas.»

Coger a los ratones por la cola es aversivo, estimula el estrés y la ansiedad. Las respuestas de los animales ansiosos pueden confundirse aún más con la neofobia hacia nuevos entornos y evitar los estímulos de prueba en áreas abiertas.

Sin embargo, el estrés de la manipulación se puede reducir sustancialmente usando un túnel de manipulación o cogiéndolos en la palma de la mano abierta. El manejo no aversivo, una breve familiarización previa con el campo de prueba y la colocación de un estímulo alternativo, podrían mejorar significativamente el rendimiento de los ratones en las pruebas de comportamiento.

Los investigadores usaron un paradigma sencillo de habituación-deshabitación en el que los animales debían discriminar entre dos estímulos de orina en ensayos sucesivos, una tarea que los ratones pueden realizar fácilmente. Los ratones que se manipularon cogiéndolos por la cola mostraron poca disposición para explorar e investigar los estímulos de prueba, lo que condujo a un pobre rendimiento en la prueba. Por el contrario, los animales manipulados con el túnel exploraron fácilmente y mostraron respuestas robustas a los estímulos independientemente de la familiarización previa o la localización del estímulo.

Minimizar el estrés asociado con el manejo es clave no sólo para el bienestar del animal sino también para los resultados científicos. Es sabido que la ansiedad en roedores se correlaciona con una reducción de la exploración. El estrés innecesario o la ansiedad debida a la manipulación antes de la prueba es probable

que cambien la atención del animal en una prueba en particular y que sea menos capaz de aprender y/o resolver tareas específicas.

Evitar esto utilizando un mejor método de manipulación podría mejorar la fiabilidad de una amplia gama de pruebas de comportamiento.



Foto: shutterstock

BIBLIOGRAFÍA

- <https://www.nc3rs.org.uk/news/results-mouse-studies-deeply-affected-way-animals-are-handled>
- Gouveia K. and Hurst J.L. **Optimising reliability of mouse performance in behavioural testing: the major role of non-aversive handling.** Scientific Reports. 2017, 7:44999. DOI: 10.1038/srep44999.

El 3Rs-Center Utrecht Life Sciences contribuye al refinamiento de experimentos con pez cebra

El 3Rs-Center Utrecht Life Sciences ha publicado información sobre el pez cebra, que podría contribuir al refinamiento de experimentos con estos animales. Ayuda a los investigadores que trabajan con pez cebra en el laboratorio a prevenir el dolor innecesario y la angustia en estos animales. La información está libremente accesible en el sitio web de *Humane Endpoints*. (<https://www.humane-endpoints.info/es>).

Esta web ayuda a reconocer los criterios de valoración humanos en animales de laboratorio. Los investigadores pueden utilizar estos indicadores para evitar o limitar el dolor y la angustia en los animales de laboratorio. El sitio web contribuye al refinamiento, ya que enseña a los investigadores, técnicos y cuidadores cómo prevenir el dolor innecesario y la angustia en los animales de laboratorio. Además de la información actualmente disponible sobre ratas y ratones, esta web incluye ahora información sobre el pez cebra.

El pez cebra se utiliza comúnmente como animal de laboratorio en todo el mundo. El sitio web de *Humane Endpoints* ya se utiliza con éxito en varios cursos de ciencia de animales de laboratorio en todo el mundo. Esta base de datos hace que la información sobre las 3Rs esté libremente disponible y tiene como objetivo contribuir a la implementación de las mismas en la investigación animal.

BIBLIOGRAFÍA

- <https://www.uu.nl/en/news/3rs-centre-utrecht-life-sciences-contributes-to-refinement-of-zebrafish-experiments>

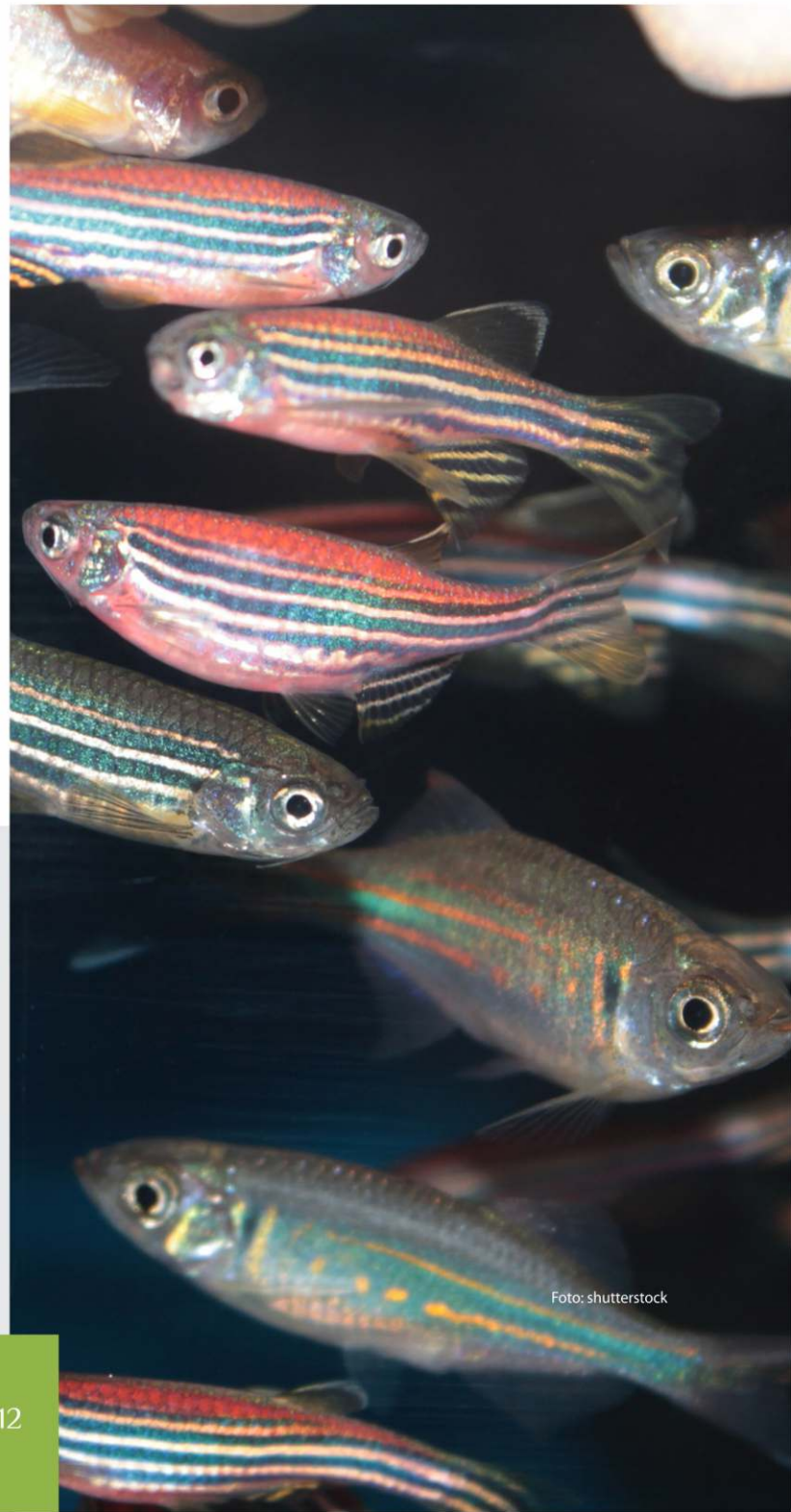


Foto: shutterstock

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

XIV Congreso SECAL Las Palmas de Gran Canaria

Del 13 al 16 del pasado mes de junio, celebramos el XIV Congreso Nacional de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio en la ciudad de Las Palmas de Gran Canaria.

representantes de las 18 firmas comerciales que apostaron por mostrarnos sus productos, sus novedades y avances técnicos en este lado del Atlántico.



Dr. José Luis Martín B.
Las Palmas de Gran Canaria

Bajo el lema *"Avances científicos en los animales para la salud global"*, el Congreso tuvo como principal objetivo profundizar en el desarrollo científico y tecnológico dentro del área de la experimentación animal. Pudimos compartir experiencias y conocimientos entre los diferentes sectores especializados y, además, darlos a conocer a la sociedad. Conseguimos en esta edición, reunir a un total de 252 personas, entre congresistas, ponentes y expositores, cerca del arrullo de las olas de la Playa de Las Canteras. Todos ellos compartieron espacio junto a los



Playa de Las Canteras

A lo largo de tres días, tuvimos a nuestra disposición ponentes de gran prestigio internacional y procedentes de los principales centros e instituciones científicas europeas como el Instituto Pasteur, el Instituto Karolinska o la Universidad Philipps de Marburg, así como instituciones americanas como la Universidad de Texas o el Instituto de Inmunología de Colombia. A todos ellos hay que añadir los centros nacionales que también nos honraron con su presencia, como el PRBB, CNIO, CNB o la UB, entre otros.

Fuimos capaces de desarrollar un programa, que preveíamos y no nos equivocamos, de gran nivel científico.

En lo que respecta a los talleres, queremos destacar los de "Valoración de la severidad", "Transferencia transcervical en ratona" o el "Taller avanzado de anestesia en cerdos", entre los demás, por sus novedosas aportaciones tanto en el campo

del bienestar de los animales como en refinamiento. Alguno de ellos, concretamente el de "Valoración de la Severidad" se realizó por primera vez en España, a cargo de las profesoras Anne-Dominique Degryse y Kathy Ryder, que vinieron desde el Reino Unido.

Los talleres tuvieron como sedes el Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y la Unidad de Investigación del Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín.

A continuación, se celebró la conferencia plenaria a cargo del prestigioso inmunólogo Dr. D. Manuel Elkin Patarroyo Murillo, padre de la vacuna contra la malaria y premio, entre otros, de la Medalla Robert Koch y Príncipe de Asturias, quien ofreció la conferencia inaugural que versó sobre las nuevas vacunas. Su intervención tuvo un marcado carácter didáctico, haciendo participar al público presente de manera activa en la misma, consiguiendo que todos fuésemos capaces de comprender los mecanismos químicos que rigen el diseño de las nuevas vacunas que está desarrollando. Además, aprovechó la ocasión para manifestar una evidente defensa de las vacunas y sus correctos calendarios de aplicación, contra las corrientes emergentes actuales que abogan por la no vacunación de la población: "Las vacunas salvan vidas. No producen autismo ni tienen metales pesados dañinos para la salud de los niños. Lo único que causa daño y retroceso es la ignorancia, la desinformación y el sensacionalismo", manifestó. Así mismo, se centró específicamente en el respeto necesario a todas las formas de vida, pero dejando constancia de la necesidad de seguir avanzando en la investigación con modelos animales, como única vía en la actualidad de garantía de éxito en el conocimiento de los complejos procesos biológicos.



Acreditaciones

La mañana del 14, se inauguró oficialmente el congreso con la presencia del Exmo. Sr. Consejero de Sanidad del Gobierno de Canarias, D. José Manuel Baltar Trabazo; el Exmo. Sr. Dr. Rafael Robaina Romero, Rector Magnífico de la ULPGC; el Ilmo. Sr. Director de Ganadería del Gobierno de Canarias, D. Cristóbal David de Vera Cabrera; el Sr. Consejero de Sector Primario y Sostenibilidad Alimentaria del Cabildo de Gran Canaria, D. Miguel Hidalgo Sánchez; el Presidente de SECAL, D. Antonio Martínez Escandell y el presidente del XIV Congreso SECAL, Dr. D. José Luis Martín Barrasa.



Dr. Manuel Elkin Patarroyo



Acto inaugural

Noticias



Congresistas en la conferencia plenaria

El congreso estuvo estructurado en torno a 9 bloques temáticos que fueron: "Fondo genético y nuevas herramientas genéticas", "Gestión de Instalaciones", "Investigación en aprendizaje, memoria y enfermedades neurodegenerativas", "Retos del refinamiento eficaz", "Enfermedades emergentes e instalaciones de biocontención", "Nuevos patógenos", "Gestión de la competencia del personal", "Microbiota intestinal" y "Experimentación en modelos acuáticos".



Dra. Sagrario Ortega



Dr. Fernando Benavides



Dra. Belén Pintado



D. Alberto Pastor



Dr. Rafael Frías



Dra. Teresa Rodrigo



Dra. Patri Vergara

En esta edición tuvimos un programa de becas de movilidad destinadas al desarrollo de la Ciencia del Animal de Laboratorio en Sudamérica y África, gracias a la colaboración del Cabildo Insular de Gran Canaria. Con esos fondos, conseguimos ayudar a compañeros de Méjico, Argentina, Colombia y Túnez a financiar sus gastos de transporte e inscripción al Congreso, continuando así con nuestra política de apertura hacia otros continentes.



D. José I. Calle (Colombia)
Dr. José L. Martín
Dra. Silvina Díaz (Argentina)

En el apartado de comunicaciones, fueron aceptadas más de 100, de las que 7 fueron seleccionadas para su presentación oral. De entre todas, fueron galardonadas como mejor comunicación oral: "Generación de un modelo murino humanizado con células mononucleares de sangre periférica" cuyos autores eran R. M. Ampudia, J. Carrillo, D. Perna-Barrull, S. Rodríguez-Fernández, A. Villalba, I. Pujol-Autonell, J. Blanco y M. Vives-Pi, y como mejor póster: "Caracterización del modelo quirúrgico de isquemia reperusión MCAo en rata mediante imagen biomédica (RM y PET) presentado por A. De Francisco, Y. Sierra-Palomares, L. Cussó, M.B. Gómez-Gaviro y M. Desco". El premio fue un viaje a Gran Canaria, por cortesía de los hoteles del Congreso y de la secretaría técnica del mismo, Airexpres.



Asistentes a las conferencias



Ganadoras a mejor comunicación oral y mejor póster

En este apartado, el Congreso tuvo como novedad la presencia de pantallas para la visualización de las comunicaciones en formato póster digital.



Pantallas para la visualización de las comunicaciones

Los días que compartimos dieron tanto para el programa científico como para el social. Fueron días de agradable clima, en una ciudad con una amplia oferta, tanto cultural como de ocio, que muchos supimos escudriñar hasta sus más recónditos rincones.

El día 13 de junio, se dio comienzo al programa social con el cóctel de bienvenida en el Museo Elder de la Ciencia y Tecnología de Las Palmas de Gran Canaria. Este acto coincidió con la inauguración del área permanente dedicada a la "Investigación biomédica con modelos animales" por la que el museo ha apostado. Un proyecto didáctico e innovador, que gracias a la colaboración de SECAL, Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín, Biosis S.L., y el Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona, pretende ser un marco de divulgación, de reflexión y respeto de nuestra actividad en el marco de las Ciencias del Animal de Laboratorio. En este mismo número de la revista, se da cuenta con más detalle de la idea y desarrollo de esta exposición.

También contamos con visitas institucionales, entre otras destacar la que realizamos al municipio vecino de Arucas, con su agradable paseo nocturno por sus calles de arquitectura colonial y su visita a la destilería del ron Arehucas, la más antigua de España. También contamos con la amable invitación que tuvimos por parte del Centro Atlántico de Arte Moderno, situado en el bellissimo entorno del barrio antiguo de Vegueta, que nos abrió sus puertas y nos guiaron a través de sus salas.

Como colofón del programa social, tuvimos la oportunidad de cenar en el incomparable marco del salón Dorado del Gabinete Literario de Las Palmas de Gran Canaria. Este edificio, de mediados del siglo XIX, que ha sido cuna de la intelectualidad grancanaria, motor de los cambios sociales de la Isla y hasta plató de algunas de las más recientes producciones cinematográficas ("*Palmeras en la nieve*" y "*Allied*"), nos sirvió para compartir, a ritmo de jazz, una velada muy entrañable gracias al patrocinio de Matachana.



Salón Dorado del Gabinete Literario de Las Palmas de Gran Canaria

No podemos cerrar estas líneas sin agradecer expresamente a las firmas comerciales su disponibilidad y su generosidad para con el Congreso.

Como empresas benefactoras contamos con: Antonio Matachana, S.A.; Biosis, S. L.; Charles River Laboratories España, S.A.; Dynamimed, S.L.; Envigo RMS Spain, S.L.; Idexx Laboratorios, S.L.; Janvier Labs; Steriltech, S.L.; Noray Bioinformatics, S.L.U.; Panlab-Harvard Apparatus, S.L.U.; Rettenmaier Iberica, S.L. y CIA SCOM; Sodispan Research, S.L.; y Steris Iberia, S.A.



Museo Elder de la Ciencia y Tecnología de Las Palmas de Gran Canaria/ Área permanente dedicada a la "Investigación biomédica con modelos animales".

También tuvimos la suerte de contar con otras empresas no benefactoras como: Animalliance; Centro Nacional de Biotecnología; DSI Better Data Science; Edstrom; Laboratory Animal; y SCIL Animal Care Company.



Las instituciones públicas que colaboraron fueron el Cabildo Insular de Gran Canaria, el Servicio Canario de Salud, la Dirección General de Ganadería del Gobierno de Canarias, el Ilustre Ayuntamiento de Arucas y el Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Las Palmas.

A todos: ponentes, congresistas, casas comerciales, instituciones... muchas gracias por participar.

¡Nos veremos en Sevilla!

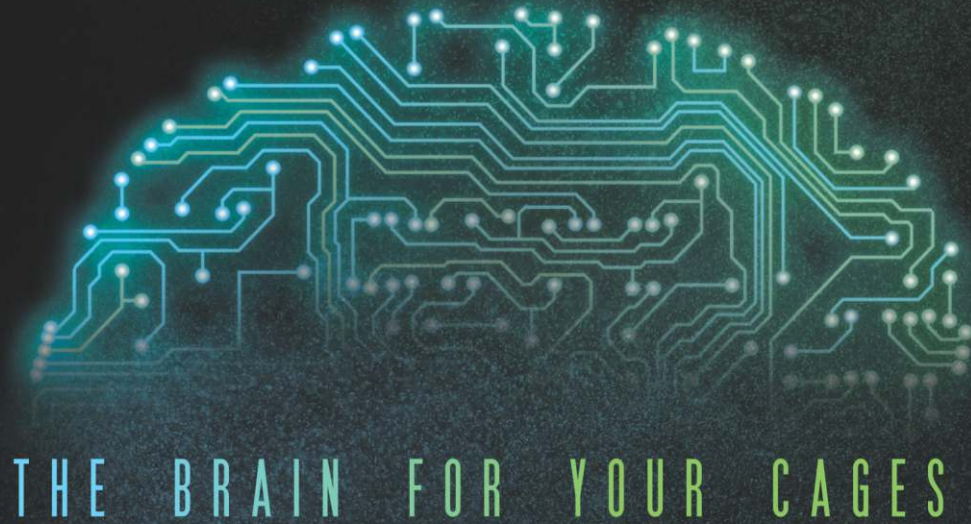


Noticias



XIV Congreso SECAL
Las Palmas de Gran Canaria





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

José Gilberto Moreno

Director del Museo Elder de la Ciencia y Tecnología de Las Palmas de Gran Canaria.



¿Cómo podemos definir o clasificar al Museo Elder de la Ciencia y la Tecnología?

El Elder destaca por ser un recinto que preserva la cultura y el legado científico en Canarias, y que se define como un espacio interactivo donde se divulgan los avances de la ciencia y la tecnología.

¿Cuál es su papel, su rol dentro del museo?

Asumir la dirección y la gerencia del Museo significa proponer y ejecutar un proyecto museístico, así como gestionarlo de manera eficaz y eficiente. Integrar el Museo en una oferta permanente y continuada en la oferta cultural, de ocio, de ocupación

del tiempo libre en nuestra población es el principal objetivo a cubrir.

¿Qué lo impulsó a trabajar dentro del Museo?

Cuando me trasladaron la propuesta, había terminado una etapa de gestión, de docencia sanitaria y de desarrollar la creación de un museo etnográfico. De pronto, trabajando en mi Centro de Salud, se me ofrece esta oportunidad de ser creativo, de aportar ideas y además de desarrollarlas. Era como aglutinar en un conjunto todo lo que sectorialmente había hecho hasta entonces en ámbitos diferentes; el impulso fue natural.

¿Cómo han ido evolucionando los museos dedicados a la ciencia /tecnología en España y el extranjero a lo largo de los siglos? Actualmente, ¿domina más la educación, divulgación, la investigación,...?

La educación está siempre presente en paralelo con la divulgación. Los museos de ciencia son una extensión de los centros educativos, desde infantil hasta la Universidad, pero avanzan en buscar una metodología interactiva que descubra, que emocione, que experimente. El formato expositivo ha dejado de ser el principal y ha pasado a ser el complementario. Y lógicamente, el carácter investigador es el que propicia el dinamismo, aunque falta mucho para que los Museos tomen iniciativas investigadoras por sí mismos. En este campo, de momento se convierten en los divulgadores de los proyectos que se realizan, impulsando el que llegue ese conocimiento al mayor número de personas.

Respecto a los equipos, material, objetos, documentos, etc. de los que dispone el museo en exposición o fondos museísticos, ¿cómo se dota el Museo?, ¿fondos propios, cesiones, donaciones, préstamos,...?

Las cesiones y donaciones han disminuido; siendo positivos debemos pensar que existen coleccionistas y propietarios de piezas, y más hablando de nuestro campo de ciencia y tecnología, que todavía hacen uso de las mismas o que debido al avance tecnológico las definen ellos mismos

como materiales obsoletos y no toman la referencia museística. En todo caso, la nueva línea de los museos de ciencia pasa por innovar y divulgar con nuevas y modernas propuestas, lo que significa el mundo experimental: la biología, las energías, la astronomía o las nuevas tecnologías. Los fondos son combinados, pero al ser expositivos se intenta buscar un carácter temporal en sus cesiones o préstamos.

¿Cuántas personas trabajan actualmente en el Museo?

Cinco técnicos, dos docentes, nueve auxiliares o guías, doce becarios universitarios, más el personal de mantenimiento, limpieza y vigilancia.

¿Dónde cree que radica el secreto para que un museo dedicado a la ciencia y la tecnología resulte atractivo al visitante y cumpla su función formadora?

Trabajo, mucho trabajo, contenido atractivo, pero sobre todo el tener una dinamización continua, referenciar el recinto como prestador de servicios y reflejar esa sensación de pasar un tiempo divertido y a la vez, enriquecedor. Muchos pasan a denominarse Parque de las Ciencias en lugar de Museo para darle ese enfoque. En el Elder, el tener unos atractivos lúdicos-culturales más quince talleres/demostraciones diarias hace que parezca un espectáculo continuo, y eso ha creado un aumento de visitantes, aparte de estar consolidando poco a poco la marca en la isla, e irlo incorporando a una oferta permanente cultural y de ocio.

¿Qué tipo de actividades y talleres se suelen organizar, a qué tipo de público va destinado y a qué nivel?

El museo en horario de mañana tiene un contexto escolar; en horario de tarde es un espacio formativo, divulgador y receptor de familias locales y turistas; el fin de semana se convierte en un parque temático. Las actividades de robótica, cine en tres dimensiones, realidad virtual o el planetario son complementos a más de diez talleres divulgativos y demostrativos de combustión, biología, anatomía, alimentación, energías renovables, luz y sonido, electromagnetismo, construcción de puentes, pioneros de la ciencia y ciencia canaria. Los contenidos, siendo los mismos, los adaptamos a los diferentes públicos y niveles.

¿Cómo surge la idea de dedicar un espacio a la experimentación animal en investigación biomédica? ¿Por qué dedicar un módulo a la experimentación animal?

Fue una oportunidad de oro inducida por el Dr. Martín Barrasa, responsable de la Unidad de Investigación Médica del Hospital Dr. Negrín de Las Palmas de Gran Canaria. Asistía a la celebración del cumpleaños de su hijo que se realizó en el Museo y ofreció su experiencia docente y divulgativa para propiciar que se realizara; fue el comienzo de un espacio y un proyecto apasionante.



¿Cómo está resultando la acogida, por parte de los visitantes, de esta nueva sección?

Hemos detectado el éxito en la visita al módulo, en la asistencia al taller que hemos ideado para complementar la sala, en la necesidad del visitante de descubrir cómo es el recorrido que va desde la experimentación animal hasta su utilidad para el organismo humano. Todo eso ha llevado a decidimos por ejemplo, de que el 100% de los escolares que este curso visitarán el Museo pasen por ese módulo y realicen un taller interactivo. Serán más de 50.000 estudiantes los que lo interioricen directamente, ya que nuestro Museo es el más visitado de Canarias y de los que acoge más escolares de los del Estado, de seis a ocho centros diarios durante todo el curso escolar.

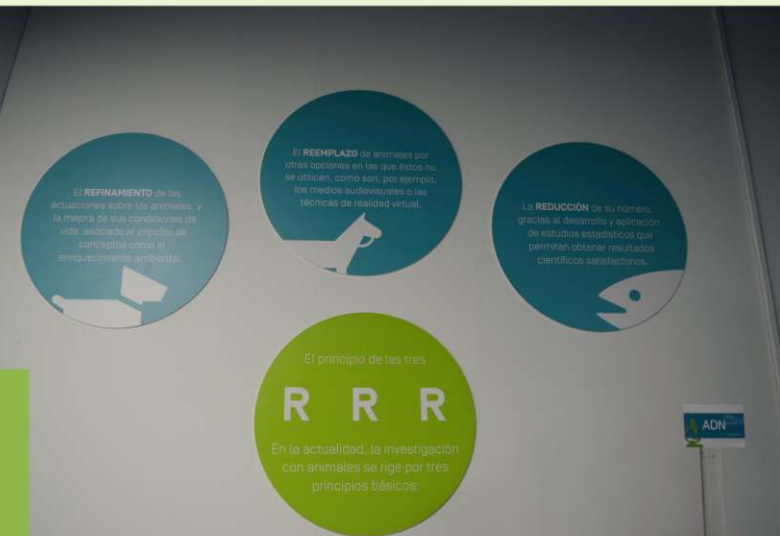
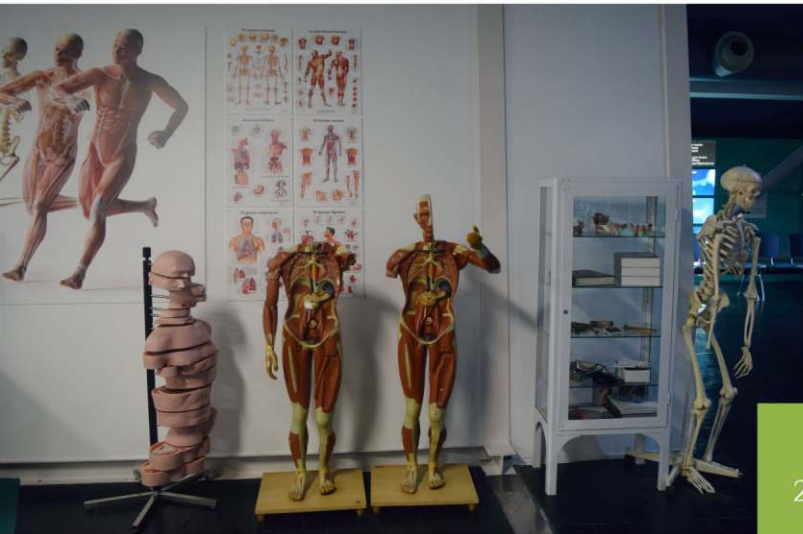


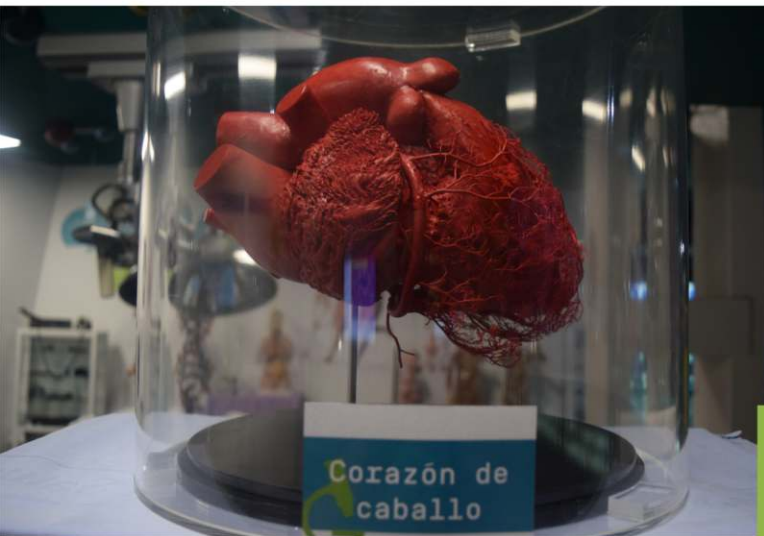
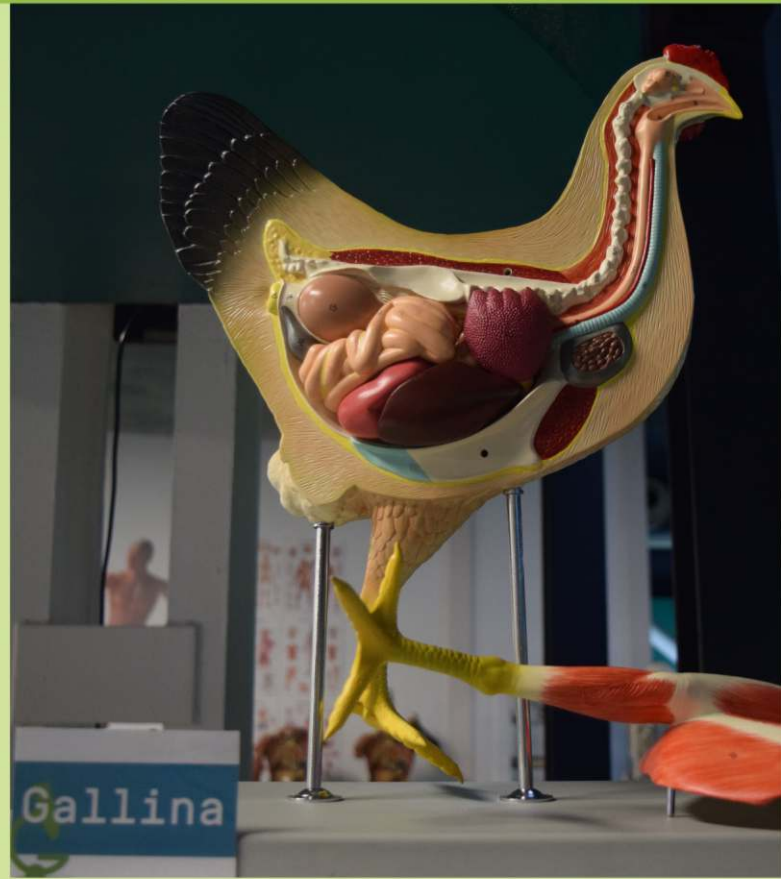
En espacio, ¿qué porcentaje representa el módulo dedicado a la experimentación animal en investigación biomédica respecto al total de superficie dedicada a exposición del Museo?

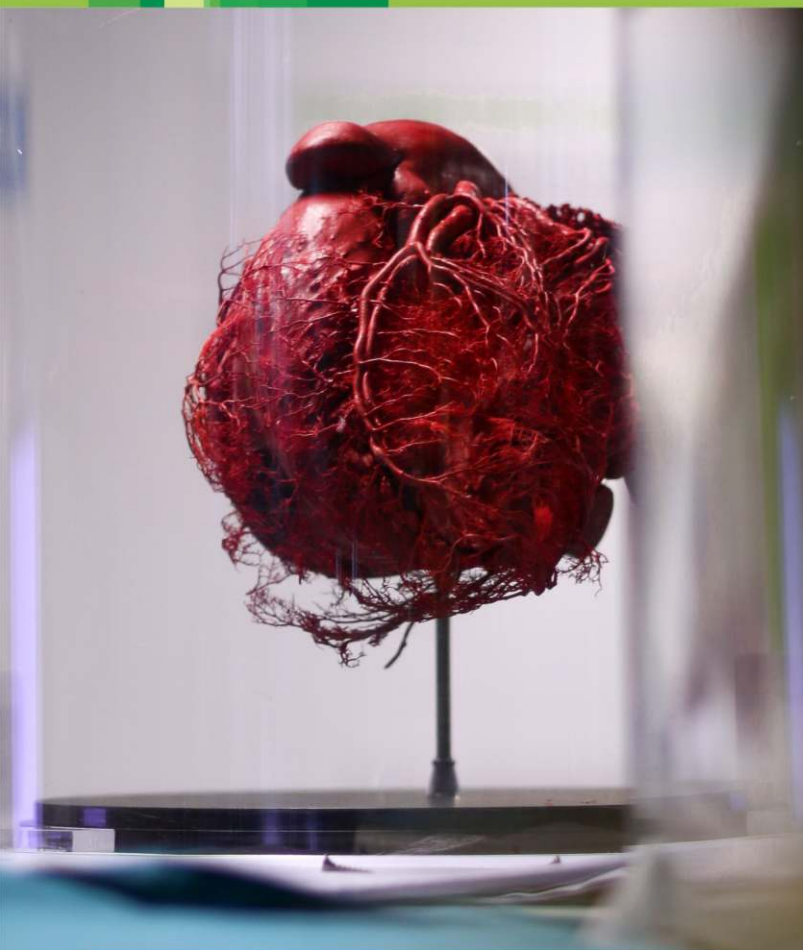
Nuestro museo tiene cuatro plantas, es amplio, pero esta zona es de los módulos temáticos más grandes que tenemos.

¿Qué podemos ver en esta área específica?

La parte expositiva se compone de paneles informativos de los principios de la experimentación animal con varios ejemplos concretos. Hacemos un reconocimiento también a los principales investigadores que ha tenido este campo. Maquetas, material orgánico, microscopios, instrumental y pantallas táctiles forman el contexto didáctico. El taller experimental simula un quirófano, con tecnología de laparoscopia con cámara a modo simulador que hace las delicias de los curiosos. Finalizamos el recorrido enlazando la continuidad con las aplicaciones en el organismo humano.







¿Cree que es compatible la experimentación animal con los museos? ¿Ha tenido algún tipo de presión por parte de sectores animalistas radicales?

Absolutamente ninguno. El rigor es exquisito en explicar el concepto desde lo científico e incluso desde lo ético. La compatibilidad de este contenido con el Museo no tiene discusión alguna; es más, la demanda que está teniendo el área avala su necesidad.

¿Además de SECAL, que otras instituciones y empresas han participado en la creación de este espacio?

El Servicio Canario de la Salud, a través de la Unidad de Investigación del Hospital de Gran Canaria, Dr. Negrín, el Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB) y la empresa BIOSIS S.L.

¿Conocía a la SECAL antes de plantearse este proyecto?

No de manera concreta, sólo la existencia de la Sociedad, pero no su funcionamiento y actividades.

¿Le ha sido útil nuestra Sociedad para llevar a cabo este trabajo?

¿Útil? Sin su empuje y la aportación del Dr. José Luis Martín esta área no hubiera existido.

¿Cree necesario que el visitante infantil del museo se divierta jugando en esta sección?

Desde la diversión y el entretenimiento llega el conocimiento. Lo lúdico es una herramienta para interiorizar la enseñanza casi sin darse cuenta, pero al crear un sentimiento agradable es más duradero lo aprendido. Para el Elder, es uno de los mandamientos en nuestra tarea de divulgación.



¿Hay un retrato tipo del visitante más interesado en este espacio?

Pues debo contestar que no. El tiempo de estancia en el área es el método de evaluación que empleamos para valorar el interés y el

nivel de satisfacción. Es muy alto en esta área, con un leve incremento si cabe en la población joven-adulta, entre 30 y 50 años.

¿Cómo ve el futuro de la Ciencia española con los continuos recortes en materia de investigación que está padeciendo nuestro país desde hace años?

Preocupante, sin duda. Si no somos conscientes que nuestra riqueza científica se debe cuidar y no fortalecemos nuestro potencial científico, no frenaremos la fuga de cerebros, la carestía de proyectos y patentes ajenas, la disminución de nuestro PIB, la resolución continua de nuestros avances, nuestro avance social y cultural en todos los sentidos.

¿El Museo dispone de alguna línea de investigación (básica o aplicada) propia o en colaboración con otras instituciones?

Inauguramos hace meses una planta dedicada a la Ciencia e Investigación en Canarias para divulgar los proyectos de investigación que centros e instituciones están llevando a cabo. Para nosotros es más que necesario hacer ver a la población el potencial que tenemos en nuestra Comunidad y que, dicho sea de paso, es muy potente, mayúsculo, yo diría que excepcional, por las condiciones medioambientales que además nos rodean. A partir de ello estamos inmersos en varias líneas investigadoras: recolección de datos antropométricos en la población escolar en relación con sus hábitos alimenticios, la eficacia del uso del hidrogel para el cultivo de la platanera y propiciar el ahorro del consumo del agua, y uno muy relacionado con el ámbito que nos ocupa que es la cría y nacimiento en incubadora del lagarto de Gran Canaria.

Un museo como el Elder, situado en la misma puerta de entrada de uno de los más importantes puertos del mundo y en un destino turístico de primer orden, recibe, sin duda, una variedad de visitantes enorme en base a su procedencia. ¿Cómo es el perfil?, ¿qué demandan?, ¿qué agradecen?, ¿qué echan en falta?, ¿con qué se sorprenden más, atendiendo a su cultura o nacionalidad?

Como bien dice, estamos justo enfrente del muelle de atraque de cruceros y además, en una zona de referencia turística en la ciudad como es el Parque Santa Catalina. El turista que entra en un Museo en unas "islas afortunadas" y con una playa de ensueño a unos pocos metros, está claro que tiene la firme intención y voluntad de encontrar algo diferente, y como dice el refrán, el que busca encuentra. Ese turista de corte familiar, o de mediana edad, quiere conocer contenidos concretos de nuestra identidad, excepcionales que no va a encontrar en otro Museo de otro lugar del mundo; las encuentra en nuestra historia, en nuestra área de cetáceos canarios, en nuestro cielo de Canarias, en nuestras energías renovables, en nuestras exposiciones temporales y situadas en nuestra geografía, pero además en nuestra forma diferente de divulgar las cosas; les llama la atención y salen muy satisfechos.



Como experto en gestión divulgativa, ¿qué consejo nos daría de cara a proyectar y dar a conocer la labor que realizamos las personas que trabajamos en un área tan sensible socialmente como es la investigación o la docencia con animales de experimentación?

Lanzar una pregunta con una respuesta clara, exponer el trabajo que desarrollan y ser demostrativo en las aplicaciones de lo que se divulga es algo con mucha fuerza y que debe conocer la sociedad. Es obligación de todos ser pedagógicos en la transmisión para anular debates estériles, o por lo menos exponer los razonamientos.

El concepto que marca el principio de las tres erres (reemplazo, reducción, refinamiento) y el saber que la historia de la medicina sin el papel de la investigación animal, no hubiese sido igual de prolífica ni beneficiosa para nuestra especie son razones suficientes para esforzarnos en buscar altavoces múltiples para dar a conocer la labor que realizan.



Desde SECAL queremos agradecer a la dirección y a todo el personal del Museo por esta iniciativa tan novedosa y necesaria en España.

*Y lo invitamos a seguir mejorando y dotando de **más contenidos, más luz, más proyección** a esta sección, de manera que sirva de piloto y prueba para el resto de museos y programas de formación y educación en España.*

*En ese sentido, SECAL se pone a su disposición y **estaremos encantados de seguir colaborando** y estrechando lazos.*

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

La fecundación *in vitro* en el ratón de laboratorio

Gonzalo Moreno Del Val y Patricia Muñoz Robledano

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

INTRODUCCIÓN

El primer intento de fecundar *in vitro* ovocitos de un mamífero se atribuye a Leopold Schenk, quien realizó experimentos con conejos en 1878 (1). Años después, en 1959, y también en experimentos realizados con conejos, se obtuvo el primer nacimiento de animales vivos derivados de embriones creados *in vitro* (2).

La fecundación *in vitro* (FIV) en el ratón fue descrita en 1968 (3), aunque su uso no comenzó a ganar importancia hasta después de la aparición de los ratones modificados genéticamente (4), cuando pudo comprobarse la utilidad de esta técnica para por ejemplo, evitar la pérdida de líneas por una edad excesiva o infertilidad de los machos (5,6), o en procesos relacionados con la gestión de estos animales como la rederivación (7), la importación de líneas sin animales vivos o los retrocruzamientos (8). Por otro lado, la aparición de los animales modificados genéticamente también provocó que se multiplicase en poco tiempo el número de trabajos que utilizaban estos organismos como modelo experimental (9,10), siendo totalmente imposible mantener vivas todas estas nuevas líneas por razones económicas y de espacio. En ese sentido, se propuso el uso de la criopreservación como una importante herramienta para el archivo de líneas (10-13), y la FIV también ha jugado un importante papel en este ámbito al mejorar la eficiencia del proceso de producción de embriones para congelación (14-16), y resultar esencial para revitalizar las líneas criopreservadas en forma de espermatozoides (8,14). Por último, cabe destacar la utilización de la FIV en los procesos de generación de ratones modificados genéticamente al permitir obtener de una manera más eficiente los embriones requeridos para la realización de estas técnicas (17).

Por todo ello, la FIV presenta muchas posibles utilidades en un animalario moderno y puede ser una técnica que merezca la pena

explorar e implantar. En nuestra institución, por ejemplo, se ha convertido en una herramienta esencial y su uso resulta más que habitual, realizando este procedimiento prácticamente todas las semanas. A continuación vamos a describir las principales peculiaridades de su uso y alguna de sus aplicaciones en un animalario.

EQUIPAMIENTO DEL LABORATORIO DE FIV

Pese a lo que podamos pensar a priori, un laboratorio donde poder realizar fecundaciones *in vitro* no requiere un equipamiento especialmente sofisticado. De hecho, el equipamiento básico consistiría en un pequeño incubador de CO₂ y una lupa (ver Figura 1) de aproximadamente 50 aumentos e iluminación, diascópica (inferior). Si después de adquirir estos equipos aún se dispone de más fondos, una buena recomendación sería la de también comprar una placa calefactada para la lupa con la que evitar la pérdida de temperatura durante el manejo que se hace de las placas de fecundación fuera del incubador.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Imagen de una lupa para FIV.

LA PLANIFICACIÓN DE LA FIV

Animales utilizados y fondo genético

La selección de los animales que van a ser utilizados resulta esencial, ya que la eficiencia de la técnica dependerá en gran medida de ello. En nuestro laboratorio, para fecundaciones con esperma fresco y siempre que sea posible elegimos machos de más de 3 meses, de fertilidad conocida y que no hayan sido cruzados en los últimos 3 días. En cuanto a las hembras, la elección dependerá en gran medida del fondo genético, el peso y la edad de los animales (18,19). Para C57BL/6J, que es la cepa que más habitualmente utilizamos, se suelen usar hembras prepúberes de 3 o 4 semanas que es cuando se obtiene la máxima eficiencia en términos de ovocitos y embriones producidos (20). Pero las diferencias entre distintos fondos genéticos no sólo se ciñen a las hembras y la superovulación, pudiendo encontrar cepas en las que las tasas de fecundación son bastante inferiores al resto (19). Así sucede en BALB/cJ, SJL/J, o 129S1/SvImJ, con las que se han propuesto algunos protocolos especiales para mejorar los resultados (21,22).

Por último, es importante tener en cuenta el genotipo de los animales utilizados, ya que aunque lo más habitual pueda ser el uso de machos mutantes con hembras *Wild type* (Wt), también podemos usar hembras mutantes en este proceso. Esto último puede ser un problema a la hora de localizar animales acordes a los requerimientos ideales de peso y edad para la superovulación dentro de una pequeña colonia de mantenimiento de una línea de ratones modificados genéticamente; en nuestra experiencia, la producción de ovocitos en hembras mutantes puede ser hasta 2 veces menor que en hembras Wt (23). Pese a ello, su uso puede tener algunas ventajas, como por ejemplo el ahorro de tiempo que conlleva rederivar una línea mutante simple con ovocitos de otra línea mutante diferente para generar al mismo tiempo que rederivamos una línea doble mutante.

Planificación temporal y horaria

La programación de la técnica debe tener en cuenta que son experimentos de 5 días, empezando el día 1 la superovulación de las hembras y obteniendo los embriones en 2 células el día 5. Esto implica que si no queremos incluir los fines de semana en la planificación de trabajo, las superovulaciones deben comenzar en lunes para tener así disponibles el viernes los embriones. Por otro lado, y si el destino de éstos es la transferencia de embriones, deberemos programar también la producción de hembras

pseudogestantes. En nuestro caso por ejemplo, seleccionamos hembras al azar y comenzamos su sincronización 3 días antes de la fecha de tapón deseada (ver Tabla 1).

En cuanto a la planificación horaria, existen varios protocolos a la hora de realizar este tipo de experimentos. En nuestro laboratorio siempre realizamos la FIV aproximadamente de 13 a 13.5 horas después de superovular las hembras con hCG. De esta manera, con 12 horas de luz y 12 de oscuridad (8:00-20:00), administramos PMSG (hormona que estimula la maduración de los folículos) a las 19 horas, hCG (hormona que induce la ovulación) a las 20 horas, y realizamos la FIV de 9:00 a 9:30.

Conviene aclarar que cuando hablamos de “realizar la FIV” nos estamos refiriendo únicamente al momento en que juntamos los dos gametos (esperma y ovocitos) y comienza su coincubación, pero el experimento habrá empezado tiempo antes.

Tabla 1.- Planificación de un experimento de FIV en ratón.

Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes		
Superov. (PMSG)	Sincroniz. pseudogest	Superov. (hCG)	Preparación placas pre incubación	Placas FIV Obtención de esperma	FIV	Embriones en 2 células
19:00		20:00	17:00	8:00-8:30	9:00-9:30	

Esperma fresco o congelado y método de congelación

El último elemento que tenemos que considerar es el protocolo que vamos a seguir, sobre todo teniendo en cuenta si vamos a utilizar esperma fresco o congelado.

En el caso del esperma fresco, las placas de FIV se podrían dejar hechas e incubando el día anterior a la fecundación, y el esperma se obtendría la misma mañana del experimento. Para ello, habitualmente se sacrifica un macho recogiendo el esperma de la cola del epidídimo, aunque también puede conseguirse un volumen suficiente de esperma mediante una cirugía y un muestreo *in vivo* (24).

Por otro lado, en el caso de utilizar esperma congelado es importante conocer el método de criopreservación utilizado y el protocolo de descongelación recomendado para poder ajustarlo a los tiempos de la FIV. En este sentido, debemos tener en cuenta que algunas placas tienen que prepararse la misma mañana de la fecundación, al estar los medios suplementados con antioxidantes (25) para evitar el daño que provocan los radicales

libres que liberan los espermatozoides muertos en la descongelación (26). Por ello solemos empezar al menos 1 hora antes del inicio de la coincubación de los gametos, ya que es preciso preparar primero el medio de fecundación e incubarlo durante al menos 30 minutos antes de utilizarlo, y por otro lado, hay que descongelar el espermatozoides e incubarlo durante 30 minutos como mínimo.

Por último, el método de congelación nos permitirá conocer o al menos intuir la concentración aproximada de espermatozoides en la pajuela, que estará en función del número de machos congelados y la dilución llevada a cabo con el crioprotector. Este dato resultará esencial para que podamos planificar correctamente el experimento de FIV. Reseñar, a modo de ejemplo, que para los dos métodos más habituales de criopreservación espermática existe una diferencia de concentraciones de alrededor de 10 veces:

- Método Jackson (27): Espermatozoides de 2 machos en 2 ml de crioprotector.
- Método Nakagata (28): Espermatozoides de 1 macho en 120 µl de crioprotector.

El experimento de FIV

En apartados anteriores hemos descrito cómo previamente al inicio de la fecundación debe realizarse un trabajo de preparación de medios, placas, y de obtención y capacitación del espermatozoides. De esa manera, cuando comencemos el experimento de FIV el espermatozoides estará preparado y podrán seleccionarse los espermatozoides con mayor motilidad para introducirlos en las gotas de fecundación. En ese momento, y coincidiendo según nuestro protocolo con las 13 horas posteriores a la administración de hCG, sacrificaremos las hembras para obtener los cúmulos que contienen los ovocitos y los distribuiremos por las distintas gotas de fecundación comenzando la coincubación con los espermatozoides. Tras 5 horas de incubación recogeremos los ovocitos de la gota de fecundación y los lavaremos transfiriéndolos de manera sucesiva a través de 3 gotas limpias de medio. Los dejaremos incubando en la última gota y a partir de la sexta hora de incubación tras la fecundación, se podrá empezar a ver qué ovocitos están fecundados (2 pronúcleos y 2 cuerpos polares), cuáles no lo están (no tienen pronúcleos), y cuáles son partenogénéticos (1 solo pronúcleo) y deben ser retirados y eliminados (ver Figura 2). Tras incubar las placas toda la noche, podremos observar a la mañana siguiente la evolución de los ovocitos fecundados a embriones de 2 células.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Imagen de ovocitos tras fecundación.

Finalidad de la FIV: planificación “de atrás hacia adelante”

La utilización de cepas consanguíneas y la posibilidad de conocer su rendimiento reproductivo en las técnicas de reproducción asistida (19) nos permite poder realizar una planificación “de atrás hacia adelante”, en función de la finalidad o el resultado que persigamos con la realización de la FIV, ya sean por ejemplo muchas crías en el caso de expansiones de líneas o unas pocas cuando realizamos una rederivación. De esta manera, conociendo el desenlace deseado para el experimento y los parámetros que afectan a todo el proceso (ver Tabla 2) podemos calcular fácilmente el número de hembras con las que comenzar el primer día la superovulación.

Tabla 2.- Rendimiento reproductivo de C57BL/6J en técnicas de reproducción asistida. Datos de Byers et al. (*) y de nuestro laboratorio (+).

% de hembras que responden a la superovulación (A)	95-100%*, +
Nº de ovocitos por hembra (B)	25.0 ± 1.2 ovocitos*
% medio de fertilización in vitro (C)	66.3 ± 3.5%*
Embriones transferidos por hembra (D)	≈ 15 embriones+
% hembras transferidas gestantes (E)	≈ 80%+
Tamaño medio de las camadas de transferencia de embriones (F)	5-6 crías+

A modo de ejemplo, en nuestro laboratorio el objetivo para una rederivación es el nacimiento de alrededor de 10 crías.

Aplicando los parámetros descritos en la Tabla 2 esto supone que necesitaremos obtener 2 partos, para lo que habremos realizado 3 transferencias con 45 embriones. Por otro lado, para obtener esos 45 embriones mediante FIV habrá sido necesario contar con al menos 69 ovocitos que habremos recogido de 3 hembras superovuladas, aunque teniendo en cuenta la posibilidad de que alguna no responda al tratamiento hormonal finalmente planificaríamos el uso de 4 hembras en este experimento (ver Tabla 3).

Tabla 3.- Planificación “de atrás hacia adelante” en C57BL/6J para obtener el número de hembras a superovular en rederivaciones y expansiones de líneas.

Resultado deseado	F	E	D	C	B	A
Rederivación: ≈10 crías	2 partos	3 transferencias	45 embriones	69 ovocitos	3 hembras	4 hembras
Expansión de líneas: ≈35 crías	7 partos	9 transferencias	135 embriones	205 ovocitos	8 hembras	9 hembras

APLICACIONES DE LA FIV

La criopreservación espermática es una técnica que presenta numerosas ventajas para la gestión de un animalario de ratones modificados genéticamente (29), y la fecundación *in vitro* es la herramienta imprescindible para poder recuperar animales vivos desde ese material congelado. Esa es tal vez su aplicación más común, aunque existen otras aplicaciones que pueden ser útiles para un animalario.

Rederivaciones

El uso de la FIV permite mejorar habitualmente la eficiencia del proceso clásico de producción de embriones con cruces naturales. Esto es especialmente importante en las rederivaciones por transferencia de embriones, ya que con frecuencia recibimos pocos machos de la línea a rederivar, y por ello son pocas las hembras que se pueden utilizar para esos cruces. Si a esto unimos que estas hembras deben ser maduras sexualmente (8 semanas) y que por tanto, la respuesta a la superovulación y el número de ovocitos por hembra (Tabla 2: A y B) sería menor que si utilizamos hembras prepúberes (20), las opciones finales de tener un número de embriones suficientes que garantice un resultado óptimo en la rederivación será menor que si usamos la fecundación *in vitro*.

Esta mayor eficiencia se traduce en un menor uso de animales ya que, como hemos podido ver en el ejemplo de la Tabla 3, lo

habitual es que todas las rederivaciones que se realizan con hembras Wt de fondo C57BL/6J se efectúen con únicamente 4 animales.

La producción de grupos experimentales y expansión de líneas

La capacidad de la FIV para producir de manera rápida y sencilla un elevado número de embriones nos permite también conseguir programar la obtención de un número importante de crías, logrando así expandir líneas o producir grupos experimentales con mayor celeridad que utilizando cruces naturales.

Obtener un número importante de crías hermanas del mismo padre y nacidas el mismo día puede ser interesante para producir “a la carta” grupos experimentales, especialmente en disciplinas como los estudios comportamentales en los que se requieren grupos amplios de animales. En nuestra experiencia, esta posibilidad también ha sido útil para poder responder a experimentos que plantean revisores de revistas científicas, ya que el largo proceso que va desde la obtención de los resultados experimentales hasta la publicación de los artículos hace que las líneas de ratones utilizadas puedan estar bajo mínimos o incluso inactivas y que, por tanto, obtener un grupo experimental amplio mediante cruces naturales pueda resultar demasiado lento para los plazos concedidos por la revista.

A modo de ejemplo y como mostramos en la Tabla 3, en nuestro laboratorio solemos producir alrededor de 35 crías por cada experimento semanal de expansión realizado.

El rescate de líneas

La gestión de líneas de ratones modificados genéticamente puede resultar muy compleja: factores intrínsecos de la línea, problemas ambientales, fallos de manejo, problemas sanitarios y un largo etcétera pueden hacer que una línea que puede ser única y muy valiosa llegue a una situación crítica en la que no sea posible encontrar individuos capaces de reproducirse y por tanto, lo más factible sea su pérdida definitiva. Si finalmente eso sucede, no sólo se ha perdido una gran inversión de tiempo y dinero, sino que también supone un desastre a nivel ético, ya que se ha podido perder la inversión en animales que se hizo para establecer esa línea.

En este tipo de situaciones críticas, las hembras de la colonia no suelen resultar útiles por tener una edad excesiva, pero los

machos y pese a poder ser también bastante mayores (en ocasiones más de 2 años) pueden servir para rescatar la línea mediante FIV. Con esta técnica y con el uso del muestreo espermático *in vivo* (24), hemos podido rescatar en los últimos 5 años 11 líneas de ratones modificados genéticamente en nuestras instalaciones.

CONCLUSIONES

La fecundación *in vitro* es una técnica que resulta esencial para poder implantar un sistema de archivo de líneas de ratones basado en la criopreservación espermática, y para poder importar líneas sin transportar animales vivos con las ventajas que todo esto conlleva. Pero como hemos podido ver, la FIV puede ser útil también en otros procesos relacionados con la gestión de colonias de ratones modificados genéticamente y además no se requiere de una gran inversión en equipamiento para establecer un pequeño laboratorio donde poder realizarla.

La principal limitación de esta técnica es el entrenamiento del personal y la planificación de la misma, aunque por todas las utilidades que ofrece y las ventajas que conlleva aplicarla en un animalario moderno, puede ser interesante invertir esfuerzos en su desarrollo e implantación.

BIBLIOGRAFÍA

1. McGeady T.A., Quinn P.J., Fitzpatrick E.S., et al. *Veterinary Embryology*. 2nd Edition. John Wiley & Sons Inc. 2017.
2. Chang M.C. *Fertilization of rabbit ova in vitro*. Nature 1959, 184(Suppl 7):466-7.
3. Whittingham D.G. *Fertilization of mouse eggs in vitro*. Nature 1968, 220(5167):592-3.
4. Gordon J.W., Scangos G.A., Plotkin D.J., et al. *Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA*. Proc Natl Acad Sci USA. 1980, 77(12):7380-4.
5. Carter D.A. *In vitro fertilization of mouse eggs*. Methods Mol Biol. 1993, 18:179-82.
6. Wakayama T., Tanemura K., Suto J., et al. *Production of term offspring by in vitro fertilization using old mouse spermatozoa*. J Vet Med Sci. 1995, 57(3):545-7.
7. Suzuki H., Yorozu K., Watanabe T., et al. *Rederivation of mice by means of in vitro fertilization and embryo transfer*. Exp Anim. 1996, 45(1):33-8.
8. Thornton C.E., Brown S.D., and Glenister P.H. *Large numbers of mice established by in vitro fertilization with cryopreserved spermatozoa: implications and applications for genetic resource banks, mutagenesis screens, and mouse backcrosses*. Mamm Genome. 1999, 10(10):987-92.
9. Ormandy E.H., Schuppli C.A., and Weary D.M. *Worldwide trends in the use of animals in research: the contribution of genetically-modified animal models*. Altern Lab Anim. 2009, 37(1):63-8.
10. Mazur P., Leibo S.P., and Seidel G.E.Jr. *Cryopreservation of the germplasm of animals used in biological and medical research: importance, impact, status, and future directions*. Biol Reprod. 2008, 78(1):2-12.
11. Mobraaten L.E. *Mouse embryo cryobanking*. J In Vitro Fert Embryo Transf. 1986, 3(1):28-32.
12. Battey J., Jordan E., Cox D., et al. *An action plan for mouse genomics*. Nat Genet. 1999, 21(1):73-5.
13. Abbott A. *Geneticists prepare for deluge of mutant mice*. Nature 2004, 432(7017):541.
14. Nakagata N. *Use of cryopreservation techniques of embryos and spermatozoa for production of transgenic (Tg) mice and for maintenance of Tg mouse lines*. Lab Anim Sci. 1996, 46(2):236-8.
15. Landel C.P. *Archiving mouse strains by cryopreservation*. Lab Anim (NY) 2005, 34(4):50-7.
16. Hagn M., Marschall S., and Hrabec de Angelis M. *EMMA--the European mouse mutant archive*. Brief Funct Genomic Proteomic. 2007, 6(3):186-92.
17. Li F., Cowley D.O., Banner D., et al. *Efficient genetic manipulation of the NOD-Rag1-/-IL2RgammaC-null mouse by combining in vitro fertilization and CRISPR/Cas9 technology*. Sci Rep. 2014, 4:5290.
18. Luo C., Zuniga J., Edison E., et al. *Superovulation strategies for 6 commonly used mouse strains*. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2011, 50(4):471-8.
19. Byers S.L., Payson S.J., and Taft R.A. *Performance of ten inbred mouse strains following assisted reproductive technologies (ARTs)*. Theriogenology 2006, 65(9):1716-26.
20. Kolbe T., Landsberger A., Manz S., et al. *Productivity of superovulated C57BL/6J oocyte donors at different ages*. Lab Anim (NY). 2015, 44(9):346-9.
21. Vasudevan K. and Sztejn J.M. *Treatment of sperm with extracellular adenosine 5'-triphosphate improves the in vitro fertility rate of inbred and genetically modified mice with low fertility*. Theriogenology 2011, 76(4):729-36.
22. Vasudevan K. and Sztejn J.M. *In vitro fertility rate of 129 strain is improved by busserelin (gonadotropin-releasing hormone) administration prior to superovulation*. Lab Anim. 2012, 46(4):299-303.
23. 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.

24. Del Val G.M. and Robledano P.M. *In vivo serial sampling of epididymal sperm in mice*. Lab Anim. 2013, 47(3):168-74.

25. Takeo T. and Nakagata N. *Reduced glutathione enhances fertility of frozen/thawed C57BL/6 mouse sperm after exposure to methyl-beta-cyclodextrin*. Biol Reprod. 2011, 85(5):1066-72.

26. Bath M.L. *Inhibition of in vitro fertilizing capacity of cryopreserved mouse sperm by factors released by damaged sperm, and stimulation by glutathione*. PLoS One. 2010, 5(2):e9387.

27. 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.

28. 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.

29. Marschall S. and Hrabec de Angelis M. *Cryopreservation of mouse spermatozoa: double your mouse space*. Trends Genet. 1999, 15(4):128-31.

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

ESTAMOS
EN EL CENTRO DE
LA INVESTIGACIÓN
EN HABLA
HISPANA



Congress

**ESLAV - ECLAM
AAALAC - SECAL
Conference 2018**

Improving quality and translation
of experimental animal studies

15 - 16 October 2018,
Barcelona Spain



eclam

European College of
Laboratory Animal Medicine



Guía práctica para la implementación de la Directiva 2010/63 aplicada a los animales genéticamente alterados

**Grupo de Trabajo de la SECAL
Ángel Naranjo¹ y Belén Pintado²**

¹ Responsable salud y bienestar animal. Centro Nacional de Biotecnología. CSIC.

² Responsable científico. Servicio de transgénesis CNB-CBM. CSIC.

INTRODUCCIÓN

La Directiva 2010/63 ha supuesto un cambio radical en muchos aspectos relacionados con la experimentación animal en los países pertenecientes a la Unión Europea. La introducción en 2013 de nuevos conceptos dentro de la legislación, tales como evaluación de bienestar, uso continuado, severidad prospectiva o retrospectiva y los cambios en los informes de usos de animales desde el año 2014, obligan a modificar rutinas y adaptar los cambios al funcionamiento diario de los animalarios.

Nuestro objetivo es tratar de facilitar esta transición a los centros y aclarar conceptos para ayudar a una interpretación uniforme, centrándonos específicamente en los roedores genéticamente alterados. Para ello nos planteamos los siguientes objetivos:

- A. Explicar los cambios legislativos y su impacto en la solicitud de proyectos y la información que debe recopilarse en los informes estadísticos apoyándonos en situaciones reales.
- B. Revisar la implementación de la Directiva en situaciones prácticas de la gestión de colonias genéticamente alteradas.
- C. Explicar la realización de los estudios de bienestar preliminares.
- D. Aclarar el recuento de los usos de animales genéticamente alterados, la severidad asociada que se observará durante los procedimientos y su inclusión en el informe.

A) IMPACTO DE LA DIRECTIVA 2010/63 EN LOS ANIMALES GENÉTICAMENTE ALTERADOS

Si tenemos en cuenta que aproximadamente un 65% de los animales utilizados en procedimientos en la Unión Europea son

ratones (1) y que en países en los que se dan resultados pormenorizados, casi la mitad de éstos se han destinado a la creación y mantenimiento de líneas genéticamente alteradas (2), se entiende la importancia de lograr una interpretación uniforme de los cambios legislativos.

Con este objetivo, la Comisión Europea reunió un grupo de expertos para clarificar los cambios y dar una serie de directrices que permitieran el cumplimiento de la legislación. Como resultado de esta reunión, se redactó un documento titulado "Documento de trabajo sobre animales genéticamente alterados" (3), aprobado por los representantes nacionales en su forma definitiva el 23 de enero de 2013 y que se puede consultar en el siguiente link:

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animal/pdf/corrigendum.pdf

Este documento resuelve muchas lagunas, pero, aun así, la aplicación práctica de la legislación va identificando "zonas grises" que se discuten para unificar criterios en una serie de reuniones periódicas que la Comisión Europea mantiene con las Autoridades Competentes de los países miembros. La unificación de criterios es esencial para que los datos estadísticos de los distintos países sean consistentes. Un ejemplo real de las diferencias en la interpretación ha sido la controversia sobre si la genotipación es o no un procedimiento y, por lo tanto, si requiere de un proyecto autorizado. Algunos países inicialmente lo consideraban un sistema de "identificación" y, consecuentemente, fuera del ámbito de aplicación de la Directiva. Sin embargo, la interpretación que se aceptó en una de estas reuniones es que el genotipado debe considerarse como procedimiento si la técnica utilizada produce una alteración del bienestar del animal igual o mayor a la definición de procedimiento.

A efectos prácticos, la biopsia de cola es siempre un sistema de genotipado invasivo. No sirve para identificar al animal, sino que es un procedimiento de obtención de tejido que se realiza en animales identificados previamente. Los sistemas de genotipación no invasivos son aquellos que se basan en características fenotípicas que pueden observarse sin tener que alterar el bienestar del animal, como por ejemplo el color u otro rasgo fenotípico visible. Cuando se ha realizado la identificación de los animales con muescas en la oreja o corte de falange y ese tejido se utiliza para hacer el genotipado, esto no se considera como "genotipado invasivo". Aunque pueda parecer contradictorio, la razón es que la identificación, como práctica pecuaria, no entra dentro del ámbito de la Directiva. En los casos en que el genotipado se hace a base de un subproducto resultante de la identificación no hace falta un proyecto autorizado. Dos documentos de FELASA (4,5) hacen una revisión exhaustiva de los sistemas de identificación y genotipación y pueden servir para decidir el sistema más adecuado para cada caso.

El nuevo marco legal marca tres modificaciones sustanciales respecto a la legislación vigente en España hasta la trasposición de la Directiva:

- 1) Ampliación del concepto de modificación genética. La Directiva habla de animales *genéticamente alterados*, incluyendo tanto a los animales modificados genéticamente en el laboratorio como a los animales en los que las modificaciones genéticas han aparecido de forma espontánea o inducida.
- 2) Modificación del concepto de "creación" de una línea genéticamente modificada. La Directiva 63/2010 puntualiza que el proceso de creación de una línea sólo termina cuando ésta esté establecida.
- 3) Obligación de contar con un proyecto autorizado por la autoridad competente para el mantenimiento de líneas con fenotipo adverso desde el punto de vista de bienestar animal.

1. Ampliación del concepto de modificación genética: impacto práctico

La Directiva especifica claramente que quedan incluidas dentro del ámbito de protección tanto las modificaciones genéticas realizadas mediante técnicas de ADN recombinante, como las inducidas por agentes biológicos, físicos o químicos y las

aparecidas de forma espontánea. Anteriormente sólo se consideraban como creación de líneas genéticamente modificadas, aquellas que se obtenían mediante tecnología del ADN recombinante. El RD 53/2013 no excluye ningún sistema de inducción de alteraciones genéticas y, por tanto, es "creación" cualquier sistema que produzca una modificación de la información genética, independientemente de la técnica o el fenómeno causante.

Las dudas que pudieran surgir de la interpretación del Real Decreto, que mantiene la terminología "genéticamente modificado", quedan disipadas por la aclaración realizada por la Comisión Europea:

Para el propósito de esta Directiva, los animales genéticamente alterados incluyen los animales genéticamente modificados (transgénicos, Knock out, Knock in y otras formas de alteración genética como las mediadas por CRISPR/Cas9) y las mutaciones naturales e inducidas a efectos de la definición dada en el artículo 3(1).

Un caso práctico que ilustra este apartado es la obtención de animales con mutaciones inducidas por agentes químicos. La anterior legislación española no requería la solicitud de un proyecto de creación de línea genéticamente modificada si se utilizaba un agente de este tipo. El más representativo es la N-ethyl-N-nitrosourea (ENU), que produce mutaciones puntuales en los espermatozoides y que son transmitidos a la siguiente generación.

Otro posible conflicto de interpretación podría darse cuando un experimento persigue obtener un genotipo que puede encontrarse en la Naturaleza. Es decir, generar mediante esta tecnología un animal que podría encontrarse perfectamente entre la población silvestre. Aunque pueda argumentarse que la alteración genética no es tal, porque se podría considerar como "natural", la tecnología utilizada es claramente un procedimiento que está buscando alterar la información genética preexistente en el individuo, aunque no dé lugar a ninguna patología, y por tanto requiere un proyecto autorizado. No hay un nivel mínimo de modificación. Incluso los animales que llevan una modificación puntual de un único nucleótido generados por cualquier sistema de edición génica, ZFN, TALENs o CRISPRs, deben considerarse genéticamente alterados y por tanto, incluidos en los conceptos de creación y establecimiento.

2. Modificación del concepto de “creación” de línea: impacto práctico

Nuestro decreto RD 1201/2005 ya requería de un proyecto autorizado para la creación de líneas modificadas genéticamente, pero el término creación sólo incluía los animales necesarios para la obtención del fundador; es decir: hembras superovuladas, machos vasectomizados y hembras receptoras. La nueva legislación específica que la “creación” sólo termina cuando una línea está establecida. El concepto de “establecer” una línea es un término que ha sido aclarado específicamente por la Unión Europea para lograr una interpretación homogénea entre los países miembros.

El documento del grupo de trabajo, y aceptado por todos los Países Miembros, determina que para “establecer” una línea hace falta cumplir dos requisitos:

- a) que la transmisión de la alteración a la siguiente generación sea estable.
- b) que se haya realizado un estudio de bienestar.

a) Trasmisión estable

La primera consecuencia práctica de tener que demostrar que la transmisión es estable, es que, como mínimo, hay que estudiar dos generaciones y éstas se deben incluir en la fase de “creación”. Podría asumirse que cualquier modificación que se ha incorporado en el genoma de un animal debería transmitirse a la siguiente generación siguiendo el esquema mendeliano o ligado al sexo. Esto es cierto en una gran mayoría de los casos, pero algunas técnicas de generación de animales genéticamente modificados pueden dar lugar a situaciones especiales. En algunos casos, lograr la “estabilidad” en la transmisión es bastante más complejo y puede requerir un número mayor de generaciones.

Por ejemplo, en el caso de la mutagénesis dirigida, las quimeras que se obtienen por inyección de células ES raramente proceden de éstas en un 100% (ver Figura 1). En la mayoría de los casos hay células del embrión receptor y, por esa razón, los animales obtenidos a partir de esta técnica pueden no transmitir a la descendencia en la proporción esperada del 50%.



Imagen suministrada por la autora

Figura1.- Quimera procedente de la microinyección de células ES de fondo C57BL/6N (negras) en embriones Hsd:ICR (albinos).

En el caso de la transgénesis aditiva, el transgén puede insertarse en más de un cromosoma. En estos casos hay que diseñar una estrategia de genotipación que permita separar las diferentes inserciones en líneas individualizadas.

Mención aparte requiere la nueva tecnología de la edición génica, especialmente la basada en los CRISPRs/Cas9. La eficiencia es tan grande que es posible obtener animales KO directamente - es decir, animales que presentan interrupción de un gen específico en sus dos alelos - pero esta tecnología potencialmente puede producir mutaciones fuera del lugar esperado (off-target) y debe de eliminarse esa posibilidad antes de realizar los estudios de caracterización fenotípica (6). En la práctica, esto puede suponer más de dos generaciones y todas las que sean necesarias deben de estar incluidas en el proyecto de creación. Todos los animales originados durante las diferentes generaciones necesarias se registrarán dentro del apartado de creación de líneas (ver Tabla 1).

Tabla 1.- Ejemplo del recuento de animales utilizados durante la creación de una línea genéticamente modificada hasta su establecimiento mediante transgénesis aditiva y microinyección de células ES y que deberían reflejarse en las estadísticas de usos de animales si utilizáramos sistemas de genotipación invasivos (biopsia de cola).

Tipo de animal	Transgénesis aditiva	Estadísticas RD 1201/05	Estadísticas RD53/2013	Microiny. células ES	Estadísticas RD 1201/05	Estadísticas RD53/2013
Hembras donantes de embriones	20	Si	Si	20	Si	Si
Hembras receptoras de embriones manipulados	10	Si	Si	6	Si	Si
Crías obtenidas	25	No	Si	10	No	Si
Determinación de la transmisión (F1) de cada positivo	20	No	Si	20	No	Si
Estudio preliminar de bienestar de cada línea (7 machos y 7 hembras, 3 camadas)	18-24	No	Si	18-24	No	Si
Total	93-99	30	93-99	74-80	26	74-80

b) Estudio inicial de bienestar

El segundo requisito para poder establecer una línea es haber realizado un estudio que permita determinar si la alteración genética tiene alguna implicación en el bienestar del animal. La inmensa variabilidad de modificaciones genéticas hace prácticamente imposible definir un estudio tipo que permita identificar todas las posibles alteraciones de bienestar. La Comisión incluyó en un anexo una recomendación de estudio (3). Este esquema debe de servir de guía, pero es necesario adaptarlo a las características especiales de cada modificación que pueden hacer necesario incorporar una edad diferente para realizar la observación, o incorporar un criterio específico de evaluación.

A nivel práctico, tener que hacer un estudio inicial de bienestar dificulta el "establecimiento" de líneas desde el punto de vista legal. Si no está establecida la línea tendremos que seguir incluyendo en las estadísticas como "creación" todos los animales que se van produciendo tengan o no un fenotipo adverso.

3. Obligación de contar con un proyecto autorizado para el mantenimiento de líneas con fenotipo adverso: impacto práctico

El tercer cambio esencial de la legislación actual es el requerimiento de un proyecto autorizado para el mantenimiento

de las líneas genéticamente alteradas ya establecidas, si se prevé que se puedan producirse animales que experimenten dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero equivalente o superior al causado por la introducción de una aguja conforme a las buenas prácticas veterinarias. Esta modificación legal no sólo afecta a los criadores comerciales, sino también a los centros que realizan cría de animales para su propio uso experimental. Debemos tener claro que la cría en sí, es un procedimiento cuando se realiza con líneas genéticamente alteradas no establecidas o cuando hay un fenotipo adverso.

La parte más controvertida es la interpretación práctica de "fenotipo adverso" y si la existencia de mecanismos de control que impidan la presentación de este fenotipo puede evitar la obligatoriedad de pedir un proyecto. En algunos casos, al caracterizar la línea durante la evaluación de bienestar que permitió establecer la línea, se determinó que las alteraciones del bienestar se manifiestan a partir de determinadas edades o determinados genotipos, como ocurre con las mutaciones que no dan fenotipo en heterocigosis pero sí lo hacen en homocigosis. En esos casos, si la cría garantizara no llegar nunca a las condiciones que permiten aparecer ese fenotipo, tal vez podría prescindirse de la solicitud de un proyecto, pero es un tema susceptible a interpretación y por ello, debería discutirse con la autoridad competente.

B) IMPLEMENTACIÓN DE LA DIRECTIVA EN SITUACIONES PRÁCTICAS DE LA GESTIÓN DE COLONIAS GENÉTICAMENTE ALTERADAS

Importación de líneas mutantes

Cuando un investigador solicita una línea genéticamente alterada que no se ha creado en el centro, debe saber si la línea ya está establecida o no, es decir, si se ha realizado un estudio de alteraciones del bienestar debidas a la alteración genética. Esa es la única manera de saber si durante el mantenimiento de la línea se van a producir animales con fenotipo adverso y si será necesaria la solicitud de un proyecto para su mantenimiento de acuerdo al RD53/21013.

Por ese motivo, cuando se intercambian modelos de ratón entre investigadores, sin ese estudio del bienestar habría que considerarlas como líneas no establecidas y por lo tanto, la importación requeriría un proyecto autorizado.

Lamentablemente, son muy pocos los casos en los que se ha hecho ese estudio siguiendo las recomendaciones dadas por el grupo de expertos para la interpretación de la directiva en el "Documento de trabajo sobre animales genéticamente alterados". La mayoría de los investigadores trabajan en campos concretos debido a la especialización. Cuando diseñan un nuevo modelo de ratón alterado genéticamente están pensando en las implicaciones fenotípicas que tendrá la alteración en su campo. Una vez obtenida la línea, estudian el fenotipo resultante en su campo de interés (inmunología, oncología, etc.) y raramente estudian otros fenotipos muy evidentes, como pueden ser los problemas reproductivos o de mortalidad.

Líneas que llevan tiempo históricamente y no tienen un estudio de bienestar hecho

En muchos centros se han ido creando líneas genéticamente modificadas con las que los investigadores vienen trabajando y en las que no se ha hecho nunca un estudio de bienestar y por lo tanto, aunque lleven mucho tiempo utilizándolas o simplemente manteniéndolas, deberían considerarse también como líneas no establecidas. Esto supone que tienen que tener un proyecto para crear la línea y posteriormente para su mantenimiento en el caso que fuera necesario.

A nivel práctico está resultando un gran problema en los animalarios y uno de los puntos más conflictivos para incorporar la nueva legislación. Nuestra recomendación es tomar una

aproximación pragmática basada en la colaboración de los grupos de investigación y el OEBA del centro. Se valorarían las alteraciones fenotípicas de las diferentes líneas basándose en la información de los grupos de investigación y las observaciones de bienestar hechas por el personal del animalario. No es un estudio "tipo" de bienestar siguiendo el esquema sugerido por el documento de la Comisión, pero puede asumirse como un estudio válido. Según eso, las líneas podrían clasificarse en diferentes categorías:

- Líneas que no presenten alteraciones del bienestar y que no se genotipan, o en caso de hacerlo, no se utiliza un sistema invasivo: no requieren un proyecto de mantenimiento.
- Línea con alteraciones del bienestar leves, moderadas o severas: sí requieren de un proyecto de mantenimiento.
- Línea que aunque no tengan alteraciones del bienestar, se someten a una genotipación invasiva: sí requieren de un proyecto de mantenimiento.

El proyecto que se debe solicitar es para el mantenimiento de líneas genéticamente alteradas y en él sólo se incluyen los animales necesarios para realizar los cruces para el mantenimiento de la colonia y todos los animales que se obtienen y que NO se destinan a un protocolo experimental específico. Los que se destinan a protocolos experimentales específicos deben de reflejarse en la estadística en el apartado correspondiente al de la finalidad de su uso.

Cada línea genéticamente modificada es un mundo y por ello que sea esencial hacer un estudio de bienestar para poder determinar si hay o no alteración del mismo y poder asignarle un grado. Lo que las estadísticas deben de reflejar es la severidad real, no la teórica. Por eso es posible que dentro de una misma línea genéticamente alterada tengamos que reflejar en las estadísticas animales sin fenotipo, con alteraciones leves, moderadas o severas. Nuestra responsabilidad es tratar de minimizar la severidad y el número de animales utilizados, sin por ello comprometer los resultados científicos. En muchos casos, una buena programación de los cruces y de los sacrificios de excedentes puede suponer una gran diferencia.

Líneas mutantes espontáneas

La Directiva se refiere a cualquier tipo de modificación genética, incluidas aquellas mutaciones espontáneas que dan

lugar a una alteración del bienestar. El documento explicativo de la Comisión es especialmente claro al mencionar que independientemente de las medidas de contención (una barrera SPF), si la mutación da lugar a un fenotipo potencialmente adverso, es necesario contar con un proyecto autorizado para el mantenimiento de la línea. Por ejemplo, líneas tales como los ratones conocidos como SCID (*Severe Combined ImmunoDeficiency*), una mutación espontánea del gen Prkdc^{scid} que elimina la inmunidad adaptativa y que en homocigosis conlleva una reducción severa en el número de linfocitos T y B, a pesar de no ser modelos generados en el laboratorio con tecnologías de ADN recombinante, están automáticamente incluidos en todas las regulaciones que afectan a los animales genéticamente alterados.

Creación de un congénico

Cuando queremos pasar una mutación presente en una línea establecida que no tiene fenotipo adverso, no sería necesario *a priori* un proyecto autorizado, salvo que haya previsión de que la interacción de esa mutación con el fondo genético pueda producir un fenotipo adverso. Sin embargo, si durante el proceso se observa alguna alteración del bienestar, es necesario valorar si es debida a una interacción inesperada con la mutación, en cuyo caso habría que pedir un proyecto.

Combinación de dos o más mutaciones en una única línea

Este es un proceso bastante frecuente, bien para generar modelos condicionales, modelos inducibles o simplemente para tratar de obtener un modelo de un proceso biológico que implica a varios genes. Aunque *a priori* las líneas originales no tengan fenotipo adverso, la combinación en un único individuo de esas mutaciones debe de considerarse como creación de una nueva línea y, por lo tanto, solicitarse un proyecto. Una vez realizada la evaluación de bienestar de esa "nueva" línea, se decidirá si es necesario un proyecto para mantenerla.

C) REALIZACIÓN PRÁCTICA DE UN ESTUDIO DE BIENESTAR

En el "Documento de trabajo sobre animales genéticamente alterados", el grupo de expertos para la interpretación de la Directiva trató de perfilar las líneas principales para la realización de dichos estudios. Este documento es una guía que permite que todos los estudios de bienestar tengan enfoques similares, puedan compararse entre ellos, sirvan para modelos de diferentes campos de investigación y así, sea posible el compartirlos con otros grupos de investigación.

El estudio cubre diferentes estadios o edades del desarrollo y vida de los animales, ya que los fenotipos pueden desarrollarse a edades diferentes a los que los animales van a ser utilizados por cada grupo de investigación. Las observaciones se producirán al menos en tres fases de la vida del animal: al nacimiento, al destete y a la edad adulta. Además, se realizarán observaciones en otros momentos diferentes a estos 3 si se prevé que pueda aparecer entonces el fenotipo adverso; por ejemplo, si se trata de una enfermedad que sólo se manifiesta, por lo menos a nivel teórico, en fases de edad avanzada.

Como hemos comentado anteriormente, los investigadores están especializados en su campo y en muchos casos les resulta complejo observar otros fenotipos, motivo por el que en el documento anterior se describen los campos en los que realizar las observaciones (aparición, tamaño, comportamiento, etc.). En relación a este punto es muy importante la formación en el reconocimiento de alteraciones en los animales. Si no tenemos conocimientos sobre el comportamiento y el aspecto de la especie animal con la que trabajamos y sobre la descripción de las alteraciones observadas, no podremos realizar un estudio del bienestar adecuado. De ahí la importancia de contar con la colaboración y la formación que aportan los técnicos que manejan los animales en los animalarios. Además, son los técnicos los que observan a los animales a diario y son los primeros en detectar alteraciones de los mismos.

El estudio de bienestar recomendado está basado en los protocolos de las primeras fases de fenotipado que se han desarrollado en los consorcios internacionales. Se llevará a cabo siguiendo los siguientes pasos:

1. Se realizará un planteamiento de cuál es el fenotipo esperado y en qué fases del desarrollo y momento de vida de los animales esperamos que afecte al bienestar. Por ejemplo, en ratones que desarrollen tumores mamarios a partir del destete -FVB/N-Tg(MMTV-PyVT)634Mul- se realizarán evaluaciones con palpaciones mamarias en diferentes etapas tras el destete.
2. Se recogerán datos de al menos un mínimo de 7 machos y 7 hembras tomadas de al menos dos camadas diferentes, *wilde type* y alterados.
3. Se realizará en animales de al menos la segunda generación (de F2 en adelante).
4. Se tomarán, al menos, datos de los animales a tres edades: neonatos, animales al destete (21 días aprox.) y de edad madura (2 meses aprox.).

5. En aquellos casos en los que el fenotipo se desarrolle a otras edades, también se tomarán datos a edades representativas del fenotipo.
6. Se compararán los datos de los animales alterados genéticamente con animales controles similares y no alterados genéticamente.

El primer estadio en el que observaremos los animales es tras el nacimiento (neonatos). Durante esa fase no es conveniente manipular los animales, por lo que las observaciones se realizarán con la menor intervención posible. Se observará:

1. Morfología:
 - Color de los neonatos: su alteración puede indicar alteraciones tales como anemia, alteraciones de la circulación, etc.
2. Comportamiento:
 - Actividad de los neonatos: se evaluará la movilidad, reflejos de posición, etc.
 - Presencia de leche en el estómago: permite saber si los animales se alimentan y si la madre tiene alteraciones en la lactación o el cuidado de la camada.
3. El número y el desarrollo de los neonatos:
 - Características de la camada: se contabilizará el número de crías por camada, sexos, y evaluación del desarrollo de los neonatos.

En los siguientes estadios, como mínimo al destete y a los dos meses de edad, se observará:

1. Apariencia general.
2. Tamaño, conformación y crecimiento.
3. Pelaje.
4. Comportamiento.
5. Signos clínicos.
6. Tamaño relativo.
7. Mortalidad y necropsias.

Dichas observaciones se pueden realizar mediante unas tablas sistematizadas que permitan ver la evolución de la línea en las diferentes etapas (ver Tablas 2 y 3).

Tabla 2.- Observaciones en Neonatos.

	Actividad de los neonatos
Color de la piel	
Actividad de los neonatos	
Lactación (<i>milk spot</i>)	
Camadas: tamaño, homogeneidad, etc.	
Observaciones	

Tabla 3.- Observaciones tras el destete.

	Destete (3sem.)	Madurez (8sem.)	Otros
Apariencia general (Morfología)			
Tamaño, conformación, y crecimiento			
Pelaje			
Comportamiento: <ul style="list-style-type: none"> - Postura - Marcha - Actividad - Interacción con el medio 			
Signos clínicos			
Tamaño relativo			
Número de animales en las etapas			
Observaciones			

Todas las anotaciones que realicemos deberían seguir definiciones objetivas, simples y claras que puedan entenderse tanto por los técnicos que manejan diariamente los animales, como por los investigadores que utilizarán el fenotipo de los animales.

Las observaciones se realizarán de forma similar a como se realiza la supervisión del bienestar durante los procedimientos. Se anotarán por cada animal las observaciones realizadas.

Podemos encontrar en guías o bases de datos nomenclatura estandarizada para descripción de signos clínicos (7, 8).

En algunas de estas observaciones se puede dar una puntuación numérica para indicar la gravedad. Es decir, si vemos diarreas podemos puntuar de 1 a 5 para indicar la gravedad de la misma.

Al finalizar el estudio de bienestar se realiza un informe en el que se resumen las alteraciones encontradas debidas al fenotipo de los animales. Este estudio de bienestar, las alteraciones

encontradas, las medidas propuestas para mejorarlo, junto con la nomenclatura oficial de la línea y las características de la alteración genética es lo que podría constituir el “pasaporte” de la línea (ver Anexo I), un documento que facilitaría enormemente el intercambio de líneas mutantes entre investigadores y contribuiría positivamente al bienestar de los animales. Entre otras ventajas podemos destacar que:

- Evitaría tener que pedir un proyecto en los casos en los que la línea no desarrolla un fenotipo adverso.
- También, en algunos casos, podría reducir la severidad del proyecto si conocemos en qué momento se produce la alteración del bienestar de la línea y ponemos las medidas adecuadas para evitarlo o realizamos un mantenimiento sin llegar a esas edades.
- Evitaría que los investigadores que tienen que utilizar esta línea por primera vez tuvieran que solicitar un proyecto para llevar a cabo el establecimiento de la línea, con la consiguiente pérdida de tiempo y recursos.
- Así mismo, se reduciría el número de animales necesarios al no tener que realizar, en cada uno de los centros, el establecimiento de la línea.

Podemos ver un ejemplo de evaluación en una línea ya creada en el anexo II.

D) RECuento DE LOS ANIMALES

La nueva legislación ha supuesto un cambio en el recuento de los animales de las líneas con alteraciones genéticas, tanto para su creación como para su mantenimiento.

Debemos separar los animales que se utilizan para la creación de los animales que se utilizan para el mantenimiento. Creación incluye no sólo líneas nuevas que se desarrollan mediante cualquier sistema de manipulación genética, sino también cuando por primera vez se realiza el cruce de dos líneas mutantes para obtener una tercera, como mencionamos en el apartado B. Hasta que no se realiza la evaluación de bienestar de la línea resultante, todos los animales producidos se incluyen siguiendo los criterios de creación reflejados en la Tabla 4.

Tabla 4.- Recuento de animales utilizados para la creación de una línea genéticamente modificada.

Tipo de animal	Creación
Hembras donantes (Procedimiento superovulación)	Si
Machos vasectomizados (procedimiento vasectomía)	Si
Hembras receptoras (transferencia quirúrgica)	Si

	CON GENOTIPACION MEDIANTE BIOPSIA DE COLA	SIN GENOTIPACION MEDIANTE BIOPSIA DE COLA
Con mutación	Si	Si
Sin mutación	Si	No
Total	TODOS	SOLO LOS MUTANTES

Dentro de la creación de la línea contaremos:

- Los animales que se utilizan para donar y recibir embriones como animales no alterados genéticamente. Los animales que nazcan alterados genéticamente tengan o no fenotipo adverso.
- Todos los animales a los que haya que realizar biopsias de cola para genotipar independientemente de que sean genéticamente alterados o no.
- En este último caso, los animales que al genotipar por métodos invasivos no han incorporado la modificación genética se contarán como no alterados genéticamente.

En todos los casos se les asignará el grado de severidad real observado, que puede coincidir o no con el predicho en la solicitud del proyecto.

Una vez se ha establecido la línea de acuerdo con los criterios de transmisión predecible y evaluación de bienestar, hay que incluir en el informe estadístico TODOS los animales que se destinan a procedimientos incluidos en proyectos autorizados. En ese caso, se incluyen bajo la finalidad que se especifica en cada proyecto y la severidad real que se haya observado, independientemente de que la nueva línea tenga o no fenotipo adverso.

De la misma manera, si un animal genéticamente alterado se sacrifica para la obtención de órganos y tejidos, se le contabilizará en la finalidad de la investigación que requiera el uso de esos órganos.

En las líneas establecidas sin fenotipo adverso, los animales utilizados para el mantenimiento no requieren proyecto y, por lo tanto, no tienen que incluirse en el informe estadístico.

En las líneas establecidas con fenotipo adverso, se incluyen dentro de la finalidad "mantenimiento de líneas genéticamente alteradas" todos aquellos animales destinados a cruces para generación de animales y todos los animales portadores de la mutación que NO se utilicen en otros proyectos o para obtención de órganos y tejidos, como es el caso de los excedentes de cría.

La validación realizada por la autoridad competente de los primeros informes correspondientes a 2014 detecta como error que hayan podido incluirse animales no alterados genéticamente en el "mantenimiento de líneas genéticamente alteradas". La causa es que se han reportado animales sin la mutación, pero sometidos a un sistema de genotipación invasivo, razón por la que hay que incluirlos en las estadísticas. La sustitución paulatina de las biopsias de cola como sistema estándar de genotipado corregirá esta situación.

Tabla 5.- Recuento de animales utilizados para el mantenimiento de una línea genéticamente modificada. NO se contarán en mantenimiento los animales utilizados posteriormente en otros procedimientos.

Tipo de animal	Creación
Animales SIN fenotipo adverso	No
Animales CON necesidad de Biopsia de cola	SI. Si tienen la mutación (como modificados) SI. Si NO tienen la mutación (como no modificados)
Animales CON fenotipo adverso	SI (como modificados genéticamente)

RECOMENDACIONES FINALES

En la práctica, todavía es difícil de valorar el impacto de la Directiva en el número de animales utilizados en experimentación animal. Hemos experimentado una etapa de transición en la que han convivido en el tiempo proyectos autorizados por la legislación previa a la publicación del RD 53/2013 y aquellos sujetos ya a la nueva normativa. Las estadísticas de 2014 han supuesto un periodo de rodaje necesario para adaptarnos a los nuevos recuentos estadísticos y ha sido el desencadenante de numerosas dudas, que posiblemente se hayan solventado de forma diferente. La complejidad de los modelos genéticamente modificados es tal, que es muy difícil marcar una directriz clara entre lo que es fenotipo adverso o no y si ciertas situaciones, como por ejemplo generar un congénico, es creación de una nueva línea mutante.

Nuestra intención en este trabajo ha sido dar una serie de criterios que ayuden a interpretar y desarrollar correctamente la legislación y con ello facilitar su implementación uniforme. También hemos tratado de identificar puntos que permitan reducir de forma sensible el número de animales utilizados. Por ejemplo, facilitando el "establecimiento" de líneas en nuestros centros e intercambiando la información en una base de datos común, ya que la legislación exige un estudio de bienestar, pero no un estudio de bienestar en cada centro. También incorporando los sistemas de genotipación no invasiva o fomentando la criopreservación de líneas. Con estas actuaciones podremos contribuir de forma clara y directa al bienestar animal y a la implementación de las 3Rs, que es en resumen el objetivo de la legislación.

BIBLIOGRAFÍA

- Daneshian M., Busquet F., Hartung T., and Leist M. *Animal Use for Science in Europe*. *Altex* 2015, 32(4): 261-74.
- <https://speakingofresearch.com/facts/uk-statistics/>
- http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/corrigendum.pdf
- Bonaparte D., Cinelli P., Douni E., et al. *FELASA guidelines for the refinement of methods for genotyping genetically-modified rodents: a report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group*. *Lab Anim*. 2013, 47(3):134-45.
- Dahlborn K., Bugnon P., Nevalainen T., et al. *Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group on animal identification*. *Lab Anim*. 2013, 47:2-11.
- Iyer V., Shen B., Zhang W., et al. *Off-target mutations are rare in Cas9-modified mice*. *Nature Methods* 2015, 12(6):479.
- Fentener van Vlissingen J.M., Borrens M., Girod A. et al. *The reporting of clinical signs in laboratory animals. FELASA Working Group Report*. *Laboratory Animals* 2015, 49(4):267-83.
- Mouse Welfare Terms (<http://www.mousewelfareterms.org/doku.php>)

Anexo I

ESTUDIO DE BIENESTAR DE LÍNEAS DE RATONES GENÉTICAMENTE ALTERADAS

1. DATOS DEL CENTRO DONDE SE DESARROLLA EL ESTUDIO

Nombre del Centro/Empresa/Instituto

Número de registro

2. DATOS DEL INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL ESTUDIO (deberá estar reconocida su capacitación)

Nombre del Centro/Empresa/Instituto al que pertenece el investigador

Apellidos y Nombre

NIF

Teléfono

Fax

E-mail

3. DATOS DEL USUARIO QUE LLEVARÁ A CABO EL ESTUDIO (deberá estar reconocida su capacitación)

Nombre del Centro/Empresa/Instituto al que pertenece el usuario

Apellidos y Nombre

NIF

Teléfono

Fax

E-mail

4. NOMBRE COMÚN DE LA CEPA DE RATONES

5. FECHA DE INICIO Y FINALIZACIÓN DEL ESTUDIO (máximo 5 años)

Fecha prevista de inicio del estudio

Fecha prevista de finalización del estudio

6. RESUMEN DE LA ALTERACION GENÉTICA Y OBJETIVO CIENTÍFICO.

7. DATOS DE LA CEPA

Procedencia ¹			
Cepa (nombre oficial) ²			
Tipo de modificación ³			
Sistema de cruce ⁴			
Generación (F, N)			
Genotipos utilizados			
Sexos utilizados			
Edad máxima de uso			
OBSERVACIONES			

8. DATOS GENÉTICOS (rellenar aquellos que correspondan)

Nombre y símbolo del/os GEN alterado			
Nº de Cromosoma (situación del gen)			
GEN expresado (Transgénicos)			
Promotor (Transgénicos)			
Nombre y símbolo de/los ALELO alterado			
Línea ES de procedencia			
Cepa de procedencia de la línea ES			
OBSERVACIONES			

9. ESTUDIO DEL BIENESTAR

- Incluir animales de grupos de edades representativas:
 - i) Neonatos, animales al destete (21 días aprox.), y de edad madura (2 meses aprox.)⁵
 - ii) Al menos un mínimo de 7 machos y 7 hembras tomados de al menos dos camadas diferentes.
 - iii) El estudio tomará animales de al menos la segunda generación (de F2 en adelante).
 - iv) Se compararán los datos de los animales alterados genéticamente con animales controles similares y no alterados genéticamente.

9.1. DESCRIPCIÓN DEL FENOTIPO ESPERADO

1. Del centro o de otro criador o suministrador (Vgr: Charles River, Harlan, Jackson, etc.)
 2. <http://www.informatics.jax.org/mgi/home/nomen/strains.shtml>
 3. Mutación espontánea, Transgénico, Mutación dirigida (Targeted mutation), Mutación por agentes químicos (ENU), Congénico, Complástico, etc.
 4. Homocigoto x homocigoto, homocigoto x heterocigoto, etc.
 5. Incluir otras edades en el caso de que la alteración genética pueda manifestarse en esos momentos alterando el bienestar de los animales.

9.2. DATOS OBSERVADOS⁶

	Destete (3 sem.)	Madurez (8 sem.)	Otros
Apariencia general (Morfología)			
Tamaño, conformación, y crecimiento			
Pelaje			
Comportamiento: - Postura - Marcha - Actividad - Interacción con el medio			
Signos clínicos (Descripción de signos clínicos)			
Crecimiento			
Número de animales en las diferentes etapas			
Observaciones			

	Observaciones en Neonatos
Color de la piel	
Actividad de los neonatos	
Lactación (milk spot)	
Camadas: tamaño, homogeneidad, etc.	
Observaciones	

10. RESUMEN DEL RESULTADO DEL ESTUDIO DEL BIENESTAR

11. REQUERIMIENTO DE PROYECTO

(¿Requiere el mantenimiento de esta cepa de ratones alterados genéticamente la solicitud de un proyecto?)

Si No

12. VISTO BUENO DEL OEBA

Apellidos y Nombre

Número de registro

Fecha, firma y sello

Fecha y firma del investigador Responsable del Estudio

.....

6. http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/corrigendum.pdf

.....

Anexo II

ESTUDIO DE BIENESTAR DE LÍNEAS DE RATONES GENÉTICAMENTE ALTERADAS

1. DATOS DEL CENTRO DONDE SE DESARROLLA EL ESTUDIO

Nombre del Centro/Empresa/Instituto

Número de registro

2. DATOS DEL INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL ESTUDIO (deberá estar reconocida su capacitación)

Nombre del Centro/Empresa/Instituto al que pertenece el investigador

Apellidos y Nombre

NIF

Teléfono

Fax

E-mail

3. DATOS DEL USUARIO QUE LLEVARÁ A CABO EL ESTUDIO (deberá estar reconocida su capacitación)

Nombre del Centro/Empresa/Instituto al que pertenece el usuario

Apellidos y Nombre

NIF

Teléfono

Fax

E-mail

4. NOMBRE COMÚN DE LA CEPA DE RATONES

5. FECHA DE INICIO Y FINALIZACIÓN DEL ESTUDIO (máximo 5 años)

Fecha prevista de inicio del estudio

Fecha prevista de finalización del estudio

6. RESUMEN DE LA ALTERACION GENÉTICA Y OBJETIVO CIENTÍFICO.

Transgénico que expresa un antígeno del poliomavirus bajo el promotor LTR del MMTV. La expresión se realizará en tejido glandular, fundamentalmente en glándula mamaria, siendo posible también su expresión en pulmón, vesículas seminales, y ovarios. Modelo para testar tratamiento frente a tumores de mama con metástasis.

7. DATOS DE LA CEPA

Procedencia ¹	URGG		
Cepa (nombre oficial) ²	FVB/N-Tg(MMTV-PyVT)634Mul/J		
Tipo de modificación ³	Transgénico		
Sistema de cruce ⁴	Wt x Hemicigoto		
Generación (F, N)	¿?		
Genotipos utilizados	hemicigoto		
Sexos utilizados	Hembras y machos		
Edad máxima de uso	3 meses		
OBSERVACIONES			

8. DATOS GENÉTICOS (rellenar aquellos que correspondan)

Nombre y símbolo del/os GEN alterado	Tg(MMTV-PyVT)634Mul		
Nº de Cromosoma (situación del gen)	¿?		
GEN expresado (Transgénicos)	Tg(MMTV-PyVT)634Mul		
Promotor (Transgénicos)	MMTV		
Nombre y símbolo de/los ALELO alterado	¿?		
Línea ES de procedencia			
Cepa de procedencia de la línea ES			
OBSERVACIONES			

9. ESTUDIO DEL BIENESTAR

- Incluir animales de grupos de edades representativas:
 - i) Neonatos, animales al destete (21 días aprox.), y de edad madura (2 meses aprox.)⁵
 - ii) Al menos un mínimo de 7 machos y 7 hembras tomados de al menos dos camadas diferentes.
 - iii) El estudio tomará animales de al menos la segunda generación (de F2 en adelante).
 - iv) Se compararán los datos de los animales alterados genéticamente con animales controles similares y no alterados genéticamente.

9.1. DESCRIPCIÓN DEL FENOTIPO ESPERADO

Las hembras desarrollaran tumores mamarios. No se espera otro fenotipo.

1. Del centro o de otro criador o suministrador (Vgr: Charles River, Harlan, Jackson, etc.)

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

3. Mutación espontánea, Transgénico, Mutación dirigida (Targeted mutation), Mutación por agentes químicos (ENU), Congénico, Complástico, etc.

4. Homocigoto x homocigoto, homocigoto x heterocigoto, etc.

5. Incluir otras edades en el caso de que la alteración genética pueda manifestarse en esos momentos alterando el bienestar de los animales.

9.2. DATOS OBSERVADOS⁶

	Destete (3 sem.)	Madurez (8 sem.)	3 Meses	4 Meses
Apariencia general (Morfología)	Normal	Normal	Normal	Normal
Tamaño, conformación, y crecimiento	Normal	Pérdida peso hembras, normal machos	Pérdida de peso en machos	Pérdida de peso
Pelaje	Normal	Descuidado hembras, normal machos	Descuidado en machos	Piloerección
Comportamiento: Postura, Marcha, Actividad, Interacción con el medio	Normal	Normal	Normal	Postura encorvada
Signos clínicos (Descripción de signos clínicos)	Sin presencia	Palpación de nódulos consistentes en mamas en hembras	Palpación de nódulos en zona inguinal y glándulas salivares en macho	Palpación de nódulos mamarios. Alteraciones respiratorias y de la micción
Crecimiento	Normal	Curva de crecimiento menor en hembras	Curva de crecimiento menor que cepa de referencia	
Número de animales en las diferentes etapas	Sin mortalidad al destete	Sin mortalidad diferentes a la cepa de referencia	Mortalidad de hembras a partir de la semana 8	Sacrificio humanitario de los animales
Observaciones			Sacrificio humanitario de hembras a las 10 semanas	

	Observaciones en Neonatos
Color de la piel	Normal
Actividad de los neonatos	Normal
Lactación (milk spot)	Presente
Camadas: tamaño, homogeneidad, etc.	8 crías por camada. Homogéneas y dentro de los valores de la cepa de referencia FVB/N
Observaciones	Normal

10. RESUMEN DEL RESULTADO DEL ESTUDIO DEL BIENESTAR

Las hembras hemicigotas MMTV-PyMT desarrollan tumores palpables a partir de la semana 5. A la necropsia se observaron metástasis pulmonares. Las hembras no pueden tener lactaciones a partir de la semana 5 por lo que es necesario el mantenimiento de las crías con hembras wt mediante cruces de hembra wt x macho hemicigoto. Los machos desarrollan tumores mamarios a partir del día 83. En las necropsias se observaron metástasis en pulmón. También se observaron tumores en glándulas prepuciales. Alteraciones respiratorias y de la micción en los animales con tumores en glándulas del sistema urinario y pulmonar.

11. REQUERIMIENTO DE PROYECTO

(¿Requiere el mantenimiento de esta cepa de ratones alterados genéticamente la solicitud de un proyecto?)

Si No

12. VISTO BUENO DEL OEBA

Apellidos y Nombre

Número de registro

Fecha, firma y sello

Fecha y firma del investigador Responsable del Estudio

.....

6. http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/corrigendum.pdf

.....



Detail Report View The Vivarium Plus

Blower Address: 192.168.13.13 Name: BL-A-13.13 Report Date: 09/15/2014

	Supply	Exhaust	Alarm					
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
09/15/2014 00:00:49...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
09/15/2014 00:01:47...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
15/2014 00:02:45...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
15/2014 00:03:43...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
15/2014 00:04:42...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
2014 00:05:39...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
2014 00:06:38...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
014 00:07:36...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
15/2014 00:08:35...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter
Date Created	ACH	Temp	Humidity	Temp	Humidity	Blower	Hops	PreFilter
09/15/2014 00:09:31...	53	78 F	44 %	78 F	47 %			
				Exhaust		Alarm		
				Supply			Hops	PreFilter

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.

Conflictos laborales. Soluciones legales a las peleas entre compañeros de trabajo

Jesús Martínez Palacio y Carmen García Ortiz
Técnicos Superiores en Prevención de Riesgos Laborales

La web Prevención integral del 23 de junio, refería un artículo de Laura Saiz en Expansión¹, que ha llamado nuestra atención y que se incluye tanto en la sección de Seguridad como en la de Legislación.

En el mismo se exponen algunas claves para atajar a tiempo las discusiones, las faltas de respeto... que acaban en relaciones laborales conflictivas y perjudiciales para la productividad de una empresa.

Los códigos de conducta internos o las normas de buena educación no siempre llegan a terminar con las difíciles relaciones entre compañeros de trabajo. Los tribunales han tenido que mediar en diferentes conflictos laborales que unas veces provocaban un mal ambiente de trabajo y otras llegaban incluso a atender contra el honor o la intimidad de parte de la plantilla.

Aunque suelen ser más comentadas las relaciones tensas entre jefes y empleados, no es nada raro encontrar tensiones entre trabajadores con la misma categoría profesional.

Hay que diferenciar entre casos de acoso laboral y conflicto laboral. Hablamos de ACOSO en casos de conductas sistemáticas duraderas y repetitivas utilizando medios relativos al trabajo, desviándolos de su finalidad, con intención de afectar psicológicamente al trabajador. El CONFLICTO se refiere a un enfrentamiento de posiciones entre personas (o grupos) en el que el comportamiento de uno perjudica el logro de los objetivos del otro. Por supuesto, siempre habrá situaciones intermedias y límites. También hay que entender que las exigencias organizacionales, el estrés laboral o el Síndrome del Quemado (*Burnout*) no forman parte de estas conductas.

La buena fe contractual, que exige el propio Estatuto de los Trabajadores en su artículo 5, es la base de estas relaciones laborales. Establece, entre los deberes básicos de los empleados, el cumplir con las obligaciones concretas de su puesto de trabajo, de conformidad con las reglas de la buena fe y diligencia. Sin embargo, este texto no da unas referencias claras de cómo deben ser esas conductas. En ocasiones, estas relaciones acaban en despidos para una de las partes cuando la tensión está perjudicando no sólo a los afectados, sino al resto de la plantilla, a la imagen corporativa y a la productividad general de la empresa. Los tribunales no sólo se han enfrentado a discusiones, también se han enfrentado a insultos, faltas de higiene y hasta asesinatos.

En el artículo también se comentan distintos casos concretos sobre situaciones conflictivas y cómo se resolvieron en los tribunales:

Despedido por no ducharse: La falta de aseo personal de un trabajador es una transgresión de la buena fe contractual, una condición que viene reflejada en varios convenios colectivos y que, si existen pruebas pertinentes que lo demuestren, podría acabar en un despido procedente, siempre que exista reincidencia en el empeño por no ducharse. La jurisprudencia también apoya de manera reiterada esta tesis. Así, uno de los fallos más comentados fue el emitido por el Tribunal Superior de Justicia de Madrid en marzo de 2007, que explicaba que la poca higiene de un trabajador crea un grave malestar a quienes han de compartir el espacio vital en el puesto de trabajo, perjudicando incluso la integridad física y moral de los trabajadores que han de soportar la falta de higiene de un compañero y que tiene una gran importancia en la convivencia social y en el rendimiento.

Invalidez absoluta por el mal ambiente: El juzgado de lo social número 3 de Vitoria concedió la invalidez absoluta a una enfermera de Osakidetza debido a un conflicto laboral con sus

1. <http://www.expansion.com/juridico/sentencias/2017/05/14/5915df6a268e3e191c8b459d.html>

compañeros de trabajo y sus superiores. El mal ambiente le provocó, según el fallo, un trastorno adaptativo reactivo a una situación de estrés y confirma que su origen se asienta en las condiciones laborales, por lo que el juez ha determinado que se trata de un accidente laboral. A pesar de que la sentencia confirma estos hechos, en ningún caso señala como probado que se trate de un caso de acoso u hostigamiento laboral y determina que, para que una enfermedad de este tipo sea considerada accidente laboral, no es obligatorio que se produzca mobbing como tal o que el acoso se realice de un jefe a un subordinado. Así, admite que se puede producir con ocasión de las relaciones entre compañeros.

A la calle por llamar “huevón” a toda la oficina: Huevón, *horseface*, patito feo o la novia de Shrek son algunos de los adjetivos que usaba una empleada para referirse, por correo electrónico, a buena parte de la plantilla y que le valieron para ser despedida cuando se enteraron los jefes de tal arsenal de correos descalificativos. Este asunto llegó al Tribunal Superior de Justicia (TSJ) de Catalunya, ya que, en primera instancia, no se consideró que este lenguaje soez pudiera considerarse falta de respeto grave porque habían sido enviados de forma privada. El TSJ sí que apreció graves ofensas contra el honor y la dignidad de sus superiores y compañeros. Además, recuerda que el contrato de trabajo que firmó la trabajadora despedida contenía un anexo que

especificaba que el uso del correo electrónico constituye una herramienta puesta a disposición sólo para el desempeño de la actividad profesional y podría ser revisado.

Matar a un superior es accidente laboral: El Tribunal Superior de Justicia del País Vasco ha considerado accidente de trabajo el asesinato de un empleado a manos de su aprendiz, un menor de edad que le atrató para robarle una cadena de oro que posteriormente vendió por 270 euros. Los dos trabajadores acudían siempre juntos al centro de trabajo en el coche del tutor, ya que vivían cerca el uno del otro. La sentencia estima que se produjeron todos los requisitos para entender que se trataba de un accidente *in itinere* a pesar de que aún no se habían montado en el coche cuando se produjo el estrangulamiento. El hecho de estar dentro del garaje para efectuar el recorrido habitual al trabajo se suma al vínculo laboral que existía entre ambos, lo que facilitó el acceso del agresor a su víctima.

En nuestro gremio creo que nunca hemos llegado a estos extremos, pero el tipo de trabajo, la distribución de tareas, el que en ocasiones éstas vayan encadenadas, la premura de tiempos, las tareas rotatorias... pueden generar este tipo de conductas que siempre y sin duda deben atajarse. Crear conciencia de equipo y apoyo mutuo puede ayudar a evitar estos comportamientos.



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

Contratas de personal o “outsourcing”. ¿Qué debemos considerar desde el punto de vista de la prevención de riesgos laborales?

Jesús Martínez Palacio y M^a Carmen García Ortiz
Técnicos Superiores en Prevención de Riesgos Laborales

La subcontratación del personal de animalarios es una realidad cada vez más presente en nuestras instalaciones. Cuando en 1994 realizamos la primera “subcontrata de personal” para el Animalario del CIEMAT, aquello parecía imposible y hubo quienes nos reprobaron y nos auguraron un escaso futuro. Hoy, casi 25 años después, esta práctica es común y va siendo habitual en muchas instituciones.

En Junio de este año se celebró en Bilbao la Feria Subcontratación 2017. En un artículo de El Diario recogido por la web Prevención Integral (1), se exponían los siguientes datos:

- El 40% de los accidentes laborales en la industria se producen en subcontratas (empresas que en el momento del accidente prestaban sus servicios a otra compañía). Este dato refuerza la opinión de los sindicatos, que achacan a las cadenas de contratación los elevados índices de siniestralidad.
- Según las centrales, el personal de estas empresas es el que se encuentra más expuesto a sufrir un accidente laboral. En parte por falta de formación y por la limitada capacidad de exigencia ante el empresario.
- Para la patronal, ni la temporalidad ni la subcontratación guardan una relación directa con la siniestralidad. En su opinión, el riesgo reside en la actividad que se realiza y no en el tipo de contrato que se firma.

En la citada Feria, el Director General del Instituto Vasco de Seguridad y Salud Laborales-Osalan, Alberto Alonso, hizo hincapié en que del total de accidentes laborales registrados durante el pasado año, casi un 9% se produjeron en trabajadores pertenecientes a subcontratas.

Por su parte, la consejera de Trabajo y Justicia, María Jesús San

José, ha incidido en que la protección del trabajador frente a los riesgos exige una actuación en la empresa que va más allá del mero cumplimiento formal de un conjunto predeterminado de deberes y obligaciones y la simple corrección *a posteriori* de situaciones de riesgo ya manifestadas. La prevención debe integrar el sistema general de gestión de la empresa.

En este sentido, creemos que es conveniente repasar, aun cuando esta sea una responsabilidad de los Servicios de Prevención de Riesgos Laborales (SPRL), las actuaciones básicas de contratante (empresa principal) y subcontrata (empresa concurrente) en materia de riesgos laborales, lo que se denomina *coordinación de actividades empresariales*.

Sólo pretendemos aquí bosquejar esta importante tarea, para que seamos conscientes, bien como contratantes, bien como personal externo, de la dimensión y contenido básico de la misma.

Esta tarea se sustenta, entre otra mucha normativa, en la Ley 31/1995 de Prevención de Riesgos Laborales (2) y el RD 171/2004 relativo a coordinación de actividades empresariales (3). Hay varias publicaciones del INSHT, como la NTP 564 (4), relativas a este tema.

El SPRL de la subcontrata debe:

- Acreditar que cumple con la normativa y en concreto:
 - La evaluación de riesgos y la planificación de la actividad preventiva relativa a los servicios contratados.
 - Proporcionar formación e información a sus trabajadores.
 - La vigilancia de la salud de los trabajadores.
 - Que los trabajadores posean la capacitación específica que sea de aplicación a los servicios contratados.

- Informar sobre los riesgos a terceros que pueda suponer su actividad, así como a notificar los accidentes de trabajo ocurridos en la empresa contratante.

El SPRL de la empresa contratante debe:

- Facilitar la siguiente información sobre el centro de trabajo y los servicios a desarrollar:
 - Información sobre los riesgos existentes en el centro de trabajo (generales y específicos), así como medidas de protección y prevención de los mismos.
 - Si procede, exigencia de trabajar conforme a procedimientos (PNTs) establecidos.
 - Obligatoriedad de tener permisos o capacitaciones para ejercer las tareas contratadas.
 - Medidas de emergencia.

Desde esta base de conocimiento se establecen toda una serie de actuaciones que exceden la pretensión de este artículo.

Y, como siempre, insistir en que la seguridad es una labor de todos. Independientemente del tipo de relación laboral que tengamos.

BIBLIOGRAFÍA

1. <https://www.prevencionintegral.com/actualidad/noticias/2017/07/25/subcontratas-concentran-40-accidentes-laborales-industria>.
2. Ley 31/1995 de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales (BOE núm. 269, de 10 de noviembre de 1995).
3. Real Decreto 171/2004, de 30 de enero, por el que se desarrolla el artículo 24 de la Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales, en materia de coordinación de actividades empresariales (BOE núm. 27, de 31 de enero de 2004).
4. NTP 564: Sistema de gestión preventiva: procedimiento de contrata. INSHT, 2000 (http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/501a600/ntp_564.pdf).

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

ESTAMOS
EN EL CENTRO DE
LA INVESTIGACIÓN
EN HABLA
HISPANA



Granja
San
Bernardo

*Minimal Disease
Level Rabbits*

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

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

Construir una sala de contención biológica: dos and dongs

Francisco Javier García Palomo

Bioquímico (USAL, 2000) y responsable del área de Biocontención del Banco Nacional de ADN Carlos III (Salamanca) desde 2005. Vicepresidente de AEBioS y vocal del Comité Técnico de Normalización 171 de AENOR para "Calidad Ambiental en interiores". Oficial de Bioseguridad (certificación IFBA).



Imagen suministrada por la autoría

Cuando nos planteamos construir una sala de contención biológica de nivel 3 (NCB3), se nos abre ante nosotros un camino que enseguida es fácil que sea más bien una escalada. Existen muchas cosas que pueden salir mal, muchos problemas técnicos que resolver y, lo que es aún más importante, mucha financiación que encontrar, no sólo para la construcción sino sobre todo para mantenerla operativa en condiciones aceptables de biocontención. No estamos hablando de un equipo que podamos utilizar una vez y aparcar en una esquina como una centrífuga o una pipeta, sino de toda una instalación, a veces un edificio completo, que va a costar mucho esfuerzo poner en marcha y mantener operativo durante un tiempo suficiente para amortizar su construcción.

¿Para qué necesitamos una sala de alta contención?

Es quizá la pregunta más fácil de hacer pero la más difícil de contestar. Una sala de este tipo sólo tiene sentido si se va a llevar a

cabo un proyecto de largo recorrido en el que la peligrosidad de los agentes utilizados nos obliga. Y aquí empiezan los problemas: ¿cómo se decide si un agente es lo suficientemente peligroso como para mantenerlo confinado? La clasificación de agentes peligrosos disponible en España en el RD664/97 o la directiva 2000/54/CE no está muy clara, pues ni vienen todas las especies ni para todas dan mucha información: no es lo mismo subcultivar una especie del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) que hacer el diagnóstico de una sangre posiblemente infectada con él. Entonces, ¿dónde está la frontera? y ¿cómo valoramos ese riesgo?

No existe en España una formación con certificación oficial específica que permita realizar esta valoración con total solvencia, y todavía son pocas las instituciones donde existe un Comité de Bioseguridad que la pueda llevar a cabo. En la mayoría de los casos, al menos en las instituciones públicas, se deja descansar esa valoración en las espaldas de los técnicos de Prevención de Riesgos Laborales (PRL) y esa acostumbra a ser un área en la que tampoco suelen tener aún ni la formación, ni la información, ni los recursos necesarios para evaluar un proyecto de este calibre. La segunda posibilidad es, a partir de los conocimientos de las personas que piensan que necesitan un área de contención, contactar con empresas del sector donde hay personal dedicado y formado, y aquí se abre un mundo de posibilidades. Algunas empresas de ingeniería confunden salas limpias y salas de contención y el error es bastante común; no es lo mismo proteger un biológico que proteger al trabajador, comunidad y entorno de ese una vez "liberado" o dentro del recinto. En otros casos, el único afán de éstas es vender una serie de equipos que no siempre satisfacen las necesidades que se exigen, pero no son capaces de evaluar el proyecto en su conjunto. Las hay que ni siquiera han construido nunca una sala de este tipo, pero se aventuran a hacerlo. Son pocas las que, con solvencia, son capaces de evaluar todo el proyecto en conjunto, diseñar, ejecutar y realizar un seguimiento completo durante toda la vida de la misma.

Lo normal, y creo que lo prudente, es dejarnos aconsejar por aquellos que están acostumbrados a trabajar con agentes peligrosos. Aquí debería aparecer la figura del Consejero de Bioseguridad (*Biological Safety Officer* o BSO), alguien con experiencia demostrada en el área, con las competencias adquiridas en años de trabajo de campo y con titulación proporcionada por instituciones extranjeras como ABSA o IFBA. El BSO debe ser una persona que tenga una amplia gama de competencias y habilidades para asesorar a la dirección y al personal sobre el uso seguro de material biológico, y que no sólo conoce y ha visitado varias instalaciones similares, sino que ha adquirido los conocimientos suficientes para el diseño integral de una sala. El profesional en bioseguridad suele además haber trabajado en otras organizaciones aplicando sistemas de gestión tales como ISO 9001, ISO 14001 u OHSAS 18001, para controlar, gestionar y fomentar el desarrollo y la implementación de los programas o sistemas de evaluación del riesgo.

El comité de bioseguridad junto con el BSO son los que deberían valorar la necesidad o no de construir una sala NCB3 a partir de los informes que el promotor del proyecto debe haber elaborado previamente. En ese informe, se deben detallar con la mayor precisión posible las actividades que se van a realizar, con qué agentes y en qué estado, así como las cantidades de agentes que se van a manipular. Con ese montón de información ya podemos empezar a trabajar en el resto de necesidades de evaluación: soluciones de ingeniería requerida, medios y espacio, necesidades de formación de personal, costes de construcción y operación..., un sinfín de detalles que se van a necesitar, tanto para su diseño como para su organización y funcionamiento.

Lamentablemente, la información para el desarrollo de esta tarea no parece ser accesible para la mayoría. La Guía para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos (INSTH, 2014), aunque es bastante completa, se queda bastante lejos de satisfacer nuestras exigencias. Hasta ahora tan sólo los manuales de la Organización Mundial de la Salud (*World Health Organization* o WHO) y sobre todo el *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (BMBL) del *Center for Disease Control* americano (CDC), nos permiten tener una visión total de los requerimientos físicos y tecnológicos para según qué necesidad de biocontención. Esas normas, de obligada aplicación en los países en los que se emiten, no siempre han sido aceptadas y aplicadas en España pero siguen siendo la referencia para muchos otros y, si me permiten, de obligado cumplimiento. La *American Biological Safety Association* (ABSA), la *International Federation of Biosafety Association* (IFBA) y

el *Canadian Institute of Health* disponen de mucha información en sus páginas web acerca de las normativas y exigencias técnicas utilizables para construir una sala de contención con todas las garantías de seguridad, incluso de las tan de moda Apps para la valoración de patógenos, a las que recomiendo echar un vistazo. Son fichas de seguridad (FDS o su acrónimo inglés MSDS) de agentes biológicos, en las que se describe su peligrosidad, posibles huéspedes, modo de transmisión, inactivación y latencia y, un montón de referencias a literatura más para saber a qué nos enfrentamos.

Además, en los últimos cuatro años, desde la Asociación Nacional de Bioseguridad (AEBioS), a la que muchos lectores ya conocerán y si no desde aquí os invito a conocerla, se ha avanzado bastante camino para generar una serie de recursos que nos permitan disponer en España de manuales de referencia en los que se traten todos los aspectos necesarios para el desarrollo de un proyecto de este tipo. El primero, aunque aún no está publicado y esperamos lo haga en los próximos meses, es la norma UNE-EN 171400, sobre "Diseño y validación de áreas NCB3 y ANCB3", donde el acrónimo "A" se refiere a animalarios. En ella han trabajado un nutrido grupo de expertos tanto de la empresa pública como privada formado por ingenieros de empresas especializadas, técnicos y usuarios experimentados y BSO's acreditados de las principales instalaciones de biocontención de nuestro país, compilando y adaptando no sólo la información más actual existente, sino también aportando la experiencia acumulada durante años de trabajo en biocontención.

¿Dónde la construimos?

Cuando ya se ha decidido sobre la necesidad de construir esta infraestructura comienzan las decisiones sobre el terreno, nunca mejor dicho. Intentar reaprovechar una zona de un edificio ya construido no suele ser una buena idea por varias razones. La primera y quizás más importante es, según las normativas antes comentadas, que se debería exigir que se ubique en una zona alejada del resto de instalaciones de nivel de contención inferior, con ningún tránsito administrativo y alejada de las paredes exteriores del edificio. Esto ya reduce las posibilidades de utilización de los edificios existentes, pues casi ninguno de las disponibles suele cumplir todas las expectativas. En el mejor de los casos se suele adjudicar una zona en los sótanos que no siempre nos va a permitir cumplir con otra exigencia bastante importante. Las zonas técnicas deberían estar formando un sándwich con la zona de contención, de manera que las salas de filtros HEPA y climatización, servicios eléctricos y otros suministros

estén en la planta superior para que todas ellas y sus conducciones estén a la vista en esa zona y se pueda acceder a ellas por el techo de la zona de contención de la manera más limpia y simple posible en el punto de uso (por ejemplo, en una caja de filtración terminal). Los efluentes líquidos deberían salir de la zona de contención por gravedad, sin depósitos ni bombas intermedias, hacia la zona de tratamiento (*Biowaste*) y con conducciones también expuestas para su control, mantenimiento y posible reparación (ver Figura 1). Además, esas zonas técnicas deberían ser consideradas con el mismo nivel de contención que la propia sala, por lo que tendremos que aislarlas de la misma manera, con sus salas de independencia, *airlocks* o SAS para todo el tráfico que deben soportar. Con esta premisa se acaban de triplicar las necesidades de espacio, por lo que una construcción ya acabada rara vez podrá acoger de manera adecuada un NCB3 o ANCB3. Además, la norma de que la altura libre ronde los 280 cm hace casi imposible encontrar en una construcción un espacio adecuado para tal fin.

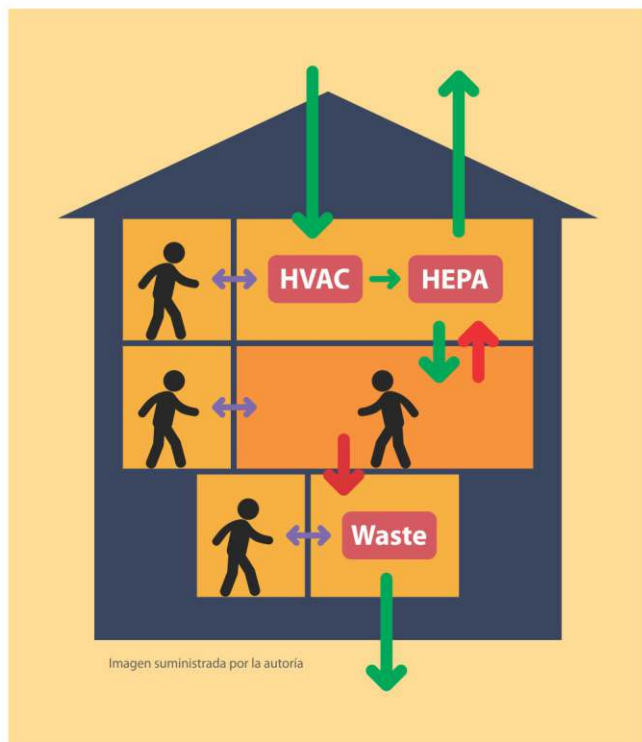


Figura 1.- Disposición aconsejada de las instalaciones.

Por eso, la mejor opción suele ser o bien realizar una construcción independiente del resto de edificios y así lograr no

tener restricciones de diseño, o bien pensar en una sala de biocontención cuando se construye el edificio.

Un ejemplo de este error y que estamos viviendo ahora es cómo en algunos hospitales, a raíz del reciente y lamentable episodio de Ebola, se pretenden construir habitaciones de aislamiento para infectocontagiosos reaprovechando habitaciones donde muchos de esos requerimientos no son factibles de llevar a cabo. De esta manera, será difícil que sean capaces de cumplir su cometido de manera eficaz y la inversión habrá sido en balde.

¿A quién le encargamos la ejecución?

Pues aunque parece la más fácil, es la más difícil. Pocas son las empresas que integran ingeniería civil con conocimientos en biocontención y bioseguridad. Como además, y sigo hablando de la empresa pública, son licitaciones que salen a concurso te puedes encontrar con muchas sorpresas. Aquí es donde ese primer trabajo de diseño y requerimientos, la llamada *Design Qualification* (DQ), juega un papel muy importante para filtrar a las empresas que de verdad construyen instalaciones homologables y "llave en mano", es decir listas para su uso, incluidas las licencias oportunas. El intrusismo de algunas ingenierías, a veces especializadas en salas blancas y quirófanos, junto con las decisiones políticas/administrativas en las que los gestores de las instituciones a veces priman cuestiones económicas, u otras aun más peregrinas, sobre la seguridad de la instalación pueden acabar en sobrecostos no asumibles o en desastres a veces irreparables.

Definir claramente las necesidades, los materiales de construcción, la resistencia mecánica y química de acabados, la ubicación de cada equipación, las instalaciones y equipos de frontera, la distribución de salas para un tráfico de materiales y personas, y equipos seguros y funcionales dejarán fuera de la fase de licitación a aquellas empresas no especializadas. Si además incluimos en la ecuación el movimiento de animales, la cosa se pone mucho más difícil, pues requerirán de su propia vía de entrada y de instalaciones específicas para su eliminación. Estamos hablando de una sala de alta contención, en la que se va a trabajar con agentes biopeligrosos que pueden causar enfermedades a veces letales para el personal de la misma, por lo que poner en la balanza consideraciones económicas frente a la seguridad de personas y entorno no me parece ético. Construir una sala de contención con recursos insuficientes no es adecuado y además es peligroso.

¿Qué elementos de contención deberían tener nuestras salas?

Desde los materiales hasta la distribución de espacios, pasando por puertas, luminarias, conducciones, sistemas de tratamiento, sistemas de intercambio de muestras, revestimientos, mobiliario, perímetro de contención, distribución del tráfico de personas y animales, etc., todo ha de ser meticulosamente diseñado.

Comencemos con los materiales del perímetro de contención y su revestimiento. Para los materiales de construcción (paredes, suelos, techos...) existe aún cierta discrepancia en el tipo más aconsejable. En cualquier caso, cualquiera que no sea fácilmente descontaminable o con juntas cuya estanqueidad no pueda ser regularmente comprobada, no suele ser una buena elección; además, si pensamos en animales de gran tamaño, la resistencia mecánica es otro hándicap. Por eso, las últimas tendencias suelen tender a utilizar el hormigón en todo el perímetro, suelos y techos, revestido con pinturas elásticas de poliuretano (frente a las epoxídicas, muy resistentes pero rígidas y quebradizas). Este tipo de pinturas ofrecen una resistencia mecánica y química muy buena, incluso para suelos, son fácilmente descontaminables y sobre todo, no requieren de personal especializado para su reparación. Además, el hormigón, como soporte de éstas, ofrece la mejor resistencia mecánica, es una excelente barrera frente al vapor y reduce el número de juntas.

En la actualidad se siguen utilizando paneles tipo sándwich, consistentes en dos capas de aluminio envolviendo un núcleo de espuma, unidos entre placas mediante junta sellada con elastómero (silicona para los no entendidos) para la tabiquería y techos, pero no siempre serán adecuadas: uniones no revisables, insuficiente resistencia mecánica o el fuego... hacen que este tipo de material no satisfaga todas las necesidades de algunas salas de biocontención. También deberemos evitar utilizar mampostería de ladrillo y cemento (salvo que los ladrillos sean macizos), pues son demasiado permeables al vapor y contienen huecos de difícil sellado.

Si ya hemos optado por el material de construcción, ahora debemos incorporar los sistemas de intercambio: personas, animales, equipos, material de laboratorio, muestras, aire, agua, electricidad... Para todos ellos debemos controlar la forma de acceder y, sobre todo, la de salir de la instalación.

Vayamos por, quizá, el más complicado de gestionar: el

intercambio de aire con el exterior. Una de las características más importantes de una sala de contención es que, una vez dentro, todo lo que salga debe hacerlo a través de sistemas que impidan la fuga de biopeligrosos, y el aire constituye un excelente vehículo de transporte para muchos de esos elementos. Esto hace que todo el aire que existe dentro de la sala haya de ser filtrado de manera similar a como se hace en una cabina de seguridad biológica (CSB) antes de poder expulsarlo al exterior; no me refiero al aire que introducimos, que lo puede hacer casi libremente si no se necesita mantener condiciones de esterilidad en la sala, sino al que sale, que sólo lo podrá hacer a través de filtros de alta eficacia (HEPA, *High Efficiency Particulate Arrestance*). A partir de esta premisa surge el siguiente elemento de contención: la presión diferencial negativa.

¿En qué consiste y para qué sirve la presión diferencial negativa? Supongamos una sala de la que estamos extrayendo aire continuamente; si simultáneamente no introducimos un volumen de aire equivalente se generaría una creciente depresión en el interior hasta alcanzar teóricamente el vacío. Esto es evidente, muy difícil y no nos lleva a ningún sitio, pero si conseguimos crear cierto nivel de depresión, como lo hace nuestro aspirador de casa, podremos conseguir una eficaz barrera de contención por dos motivos:

- Al aspirar continuamente el aire de una sala, estamos limpiando de partículas su interior.
- Cuando la puerta de esa sala se abre, para entrada o salida de cualquier elemento, la depresión interior impedirá que las partículas traten de salir hacia la sala contigua, pues la corriente de aire generada siempre fluye hacia la zona en depresión.

Si esa depresión generada entre salas contiguas va creciendo a medida que entramos hacia la sala de contención (ver Figura 2), el flujo de aire será siempre desde zonas limpias hacia zonas menos limpias o contaminadas, impidiendo la salida de biopeligrosos. Las presiones diferenciales aconsejadas entre salas suelen estar entre los 20-35 Pa: se utilizan los valores más altos con puertas de gran tamaño, con el fin de mantener ese flujo de aire cuando se abren, pero pensad en que los equipos encargados de realizarlo han de ser muy potentes para poder mantener esas solicitudes, más cuanto mayores sean. Al final, la sala más sucia tiene una depresión mucho mayor respecto al exterior (teórico 0 Pa), pero entre ellas siempre hay 20-30 Pa.

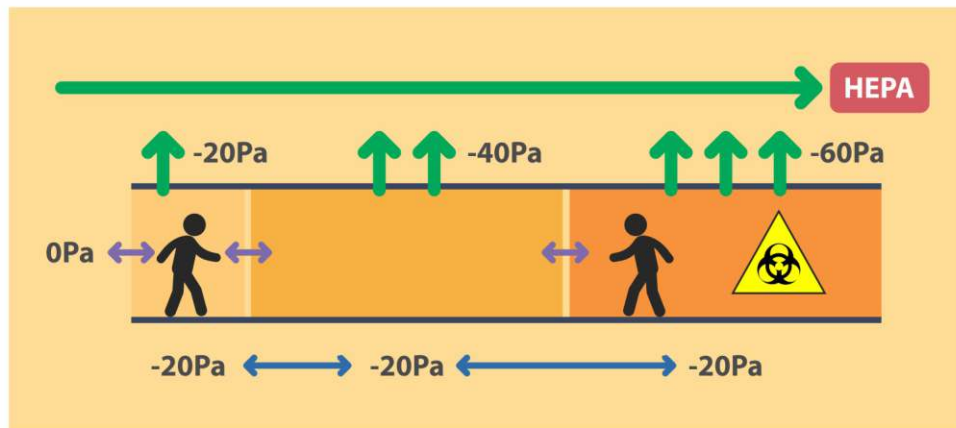


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Diagrama de presión diferencial.

Junto con este sistema de depresión, se utiliza el enclavamiento de puertas: consiste en impedir, mediante cierres electrónicos, que dos puertas contiguas puedan estar abiertas simultáneamente. Así nunca se podrán poner en contacto aéreo directo salas de dos niveles de depresión diferentes y se evitarán posibles fugas. Si ese enclavamiento de puertas se coordina con los sensores de presión diferencial, de manera que no permita la apertura hasta alcanzar los niveles adecuados de depresión en cada sala, el sistema ganará mucho en seguridad.

Y ya que hablamos de las puertas, veamos cómo podrían ser las ideales: lo primero y más importante es que tengan un tamaño adecuado al tráfico que vayan a soportar (personas, animales, equipos...). En general, es aconsejable instalar puertas cuyo ancho/alto libre ronde los 100 x 205 cm, pero en algunos casos puede interesar anchos mayores, sobre todo en el caso de puertas por donde tengan que pasar equipamientos. El segundo punto, muy importante a mi modo de ver, es que tengan una ventana de observación para que antes de entrar o salir veamos lo que sucede al otro lado. Quedan lógicamente excluidas las que dan acceso a vestuarios, duchas... aunque esto es discutible según qué casos. En tercer lugar está el nivel de estanqueidad que proporcionan a la sala. Las que dan estanqueidad total mediante junta hinchable (parecidas a las de un barco o submarino) son muy caras y, en una instalación de este tipo, a veces inasumibles; un consejo es utilizarlas sólo para delimitar la zona de alta contención, en entrada y salida, y poner puertas más sencillas en el resto de la instalación, aunque siempre también con junta de estanqueidad en todo el perímetro de la hoja. De esta manera, podemos reducir un poco los costes sin comprometer la seguridad de la instalación, pero es una elección de cada uno.

Pues si las puertas constituyen el sistema para la entrada a la zona de contención para personas, animales y equipamientos, ahora necesitamos también disponer de sistemas que nos permitan el tráfico a la inversa, es decir, desde zonas contaminadas hacia zonas limpias. En este caso, hemos de suponer que cualquier cosa que haya entrado a zonas contaminadas está también contaminada; de esta manera, antes de poder salir debe ser tratada según su naturaleza. Para eso, existen numerosos sistemas llamados "de barrera" que nos van a permitir realizar ese trabajo. Se llaman "de barrera" porque se disponen exactamente ahí, en la frontera entre zonas y para habilitar el tráfico de una a otra, también bidireccionalmente. Existen numerosos modelos, tipos, tamaños... pero vamos a intentar definir los principales:

- **Autoclaves:** dispuestos en barrera, con doble puerta (una en cada sala de la que son frontera), permiten el tráfico bidireccional mediante la esterilización de materiales con vapor, aunque existen otros modelos como los de peróxido de hidrógeno. Es el equipo de barrera de elección, y por ley necesario, para poder sacar material contaminado de la instalación. Pero atención, el material de desecho así tratado aunque esté esterilizado en nuestra instalación (algo muy aconsejable) deberá ser finalmente recogido por una empresa gestora de residuos biopeligrosos y tratado según ley (normalmente Grupo 6, UN3291).
- **SAS (Sistema de Acceso Seguro):** son dispositivos de aislamiento e intercambio dispuestos en el tabique de separación entre dos salas de diferente nivel de contención. Se componen de una cámara y dos puertas de acceso, una en cada sala. Las puertas están lógicamente enclavadas entre sí y

la cámara tiene algún sistema de descontaminación interior. Los materiales, una vez dispuestos dentro, han de pasar un ciclo de descontaminación (UV, vaporización con peróxido, filtración del aire interior mediante HEPA...) antes de poder salir por la puerta contraria. Se utilizan para el trasiego de pequeño material, muestras, botellas con medios...

- Dunk-tank o deep-tank: aunque entre los especialistas no nos ponemos de acuerdo, es una variante del anterior. Consiste en una cámara inundada con líquido esterilizante en el que se sumergen los materiales objeto de tráfico para poder atravesar la frontera de contención. Se utilizan principalmente para el trasiego rápido de muestras termosensibles, por ejemplo, un vial de células que debe ser congelado a la mayor brevedad posible.
- Air-locks: cuando el tráfico es para objetos pequeños, una simple cámara tipo SAS suele ser suficiente, pero cuando tratamos de sacar un equipo (centrífuga, CSB...) esto no nos sirve. Pues para eso están los air-locks, habitaciones de frontera con puertas enclavadas y cierre de alta estanqueidad, que nos van a permitir introducir un material y esterilizarlo dentro de ella mediante fumigación, aspiración de partículas, etc. Es común confundir "air-locks" con salas de independencia y, aunque parecidas y con funciones también de barrera, no son técnicamente lo mismo; la primera es una sala con puertas de alta estanqueidad, en la que podríamos fumigar con gases sin fugas hacia otras salas, mientras que la segunda no tiene ese tipo de puertas de alta eficacia.
- Duchas y vestuarios tipo "air-lock": para las personas, parece evidente que la única manera de descontaminarnos para salir de la zona biocontenida es mediante "arrastre y dilución", es decir, mediante una ducha. No vale una simple ducha, pues los aerosoles generados también son contaminantes y hay que aspirarlos y tratarlos; debe ser una ducha ubicada en barrera, como un "air-lock", que impida la fuga de aerosoles y que cuando hayamos terminado, la puerta de salida nos sitúe en una zona libre de aquellos y fuera de la zona teóricamente "sucia" para secarnos y vestirnos con la ropa normal.
- Salas de cuarentena: no son específicamente sistemas de barrera, pero cuando tenemos que introducir animales vivos en la instalación no podemos hacerlo directamente, sino que se han de mantener estabulados, en cuarentena, hasta que puedan acceder a la zona biocontenida.

Ya hemos hablado de los sistemas de barrera, pero aún quedan elementos que han de entrar o salir de la instalación de manera controlada. Uno de ellos es el agua que, si bien puede entrar casi sin más a la instalación no lo podrá hacer para salir. Toda el agua consumida en autoclaves, dunk-tank, duchas, lavamanos... debe ser tratada antes de ser vertida al alcantarillado público. Para eso, toda instalación debe poseer un sistema de tratamiento de efluentes para que, química o térmicamente, se asegure que nada peligroso sale de la instalación. El problema es más complicado en animalarios, donde las heces, las camas de los animales y sus carcasas (como gusta llamar a los cadáveres) son difíciles de tratar. Para heces se suele optar primero por la separación de sólidos para su tratamiento químico (sosa y posterior neutralización) y por otro lado el térmico para el líquido. Para las carcasas, sobre todo de animales grandes, el problema es más complicado y da para una serie de artículos más.

En cualquier caso, piensen que esa zona de tratamiento es donde se juntan todos los residuos que debemos neutralizar, por lo que ha de ser considerada casi como una zona de contención más, quizá la peor y más difícil de gestionar.

Hemos hablado de fumigar salas, "air-locks", etc. ¿cómo se hace? Pues existen numerosas metodologías para ello, pero en la actualidad se utilizan sistemas de distribución de gas, casi siempre peróxido de hidrógeno, en diferentes formatos: plasma, gas pulverizado a alta presión... Toda instalación debe contar con un sistema que le permita esterilizar al completo una sala, por lo que deberemos elegir el que se adecue al tamaño, tipo y posibilidades económicas de cada proyecto, pero siempre asegurándonos de que el proceso es fiable, validable y biospecífico, es de decir, elimina los elementos peligrosos que generemos en la sala.

Aunque queda por hablar de un sinfín de detalles, sólo me extenderé un poco más en las conducciones: electricidad, agua, datos, incluso las del sistema de presurización. Todos los elementos de una instalación de este tipo deben estar fácilmente accesibles para su total limpieza, revisión, reparación, sustitución... Por eso, al principio de este artículo insistí en la necesidad de disponer de zonas técnicas para ubicar todas ellas y distribuir los suministros de aire, luz, agua, etc. hacia cada zona. Pero la mayoría de las veces no vamos a tener eso, y como mucho dispondremos de una sola planta y quizás algún espacio más en otra planta. En este caso huyan de los falsos techos, de cualquier zona en la que se "escondan" elementos a los que no podamos acceder (patinillos, falsos huecos...) y dispongan todos los

elementos en superficie como si de una instalación industrial se tratase: nunca, y subrayo nunca, deben prevalecer consideraciones estéticas sobre consideraciones de bioseguridad o técnicas.

Una vez construida, ¿cómo la vamos a mantener? Y ¿quién se va a encargar de su dirección y control?

Si hemos sido capaces de llegar hasta este punto y sobrevivir mentalmente a un proceso con el que seguramente llevamos una buena temporada, quizás un par de años, comienza otra serie de problemas que se prolongarán durante todo el tiempo de vida de la instalación y que radica en cómo mantenerla operativa en condiciones aceptables de seguridad.

No sólo debemos pensar en mantenerla operativa (validaciones periódicas, consumibles, averías y obsolescencia de equipos...) sino también dotarla de una jerarquía de dirección y control adecuada, y todo eso supone un importante esfuerzo económico. Incluso en las pequeñas instalaciones debemos establecer una serie de responsabilidades y controles internos y externos que aseguren el correcto y seguro funcionamiento.

Para ayudarnos en esa estructuración de personal disponemos de una segunda herramienta en forma de la norma española UNE-CWA 15793:2011 "Gestión del riesgo biológico en el laboratorio", en este caso traducida y adaptada de la norma europea por un grupo de expertos de AEBioS, (de ahí el acrónimo CWA, *CEN Workshop Agreement*), que describe y delimita las figuras que deberían existir en la organización. La norma, basada en el manido pero efectivo Ciclo de Deming, establece una serie de responsabilidades y obligaciones de las estructuras organizativas que deberían existir en una instalación.

Y si esta norma nos resulta complicada de interpretar disponemos de otra accesoria, la UNE-CWA 16393:2012 "Laboratory biorisk management-Guidelines for the implementation of CWA 15793:2008", que amplía y complementa la anterior.

He de recordar que los normas UNE no son en ningún modo requerimientos legales para estas instalaciones al menos de momento, pero a buen seguro nos ayudaran a identificar, controlar y reducir hasta niveles aceptables los riesgos con los que vamos a trabajar en salas NCB3/ANCB3.

¿Quién va a controlar el trabajo?

Hemos planteado que para dirigir y controlar estas salas hay que elegir y nombrar cuidadosamente a las personas que integrarán la plantilla asociada. Como decíamos al principio del artículo, la formación requerida, capacitación y competencia de todo ese personal no está bien definida y a veces es difícil de acotar. En estos casos, y para los puestos de dirección, solemos optar por personas con cierta experiencia "de campo" en este tipo de salas y con titulación adecuada (microbiólogos, virólogos, parasitólogos, veterinarios en el caso de animalarios...) pero no siempre podremos asegurar la adecuada capacitación para gestionar una sala de tan especiales características.

La posición del director científico de la instalación no supone sólo tener conocimientos de microbiología, bioquímica o biología celular, sino que también debe tener ciertas aptitudes para comprender soluciones de ingeniería y un profundo conocimiento de su instalación, así como tener las aptitudes para coordinarse con directores técnicos, auditores, BSO...

Otra figura importante es el director técnico, una persona con conocimientos de ingeniería que sea capaz de comprender las instalaciones del laboratorio, equipos de contención y edificios, además de tener cierto conocimiento sobre el manejo de agentes biológicos y toxinas.

Debemos recordar que, siempre que se manejan agentes peligrosos, existe una clara diferencia entre bioseguridad y bioprotección, palabras que he cuidado no utilizar inadecuadamente. La primera es la que define los medios de control del riesgo biológico y la segunda se ha quedado restringida al control sobre la utilización inadecuada o liberación voluntaria de esos agentes.

Pues bien, relacionada con la bioprotección debería existir una persona responsable del control de agentes, control de stocks, entrada y salida de los mismos, etc. No tiene por qué ser alguien del ámbito biosanitario y, en los últimos años, se tiende a delegar esto a empresas de seguridad. La elección caerá en manos de la "alta dirección".

Pues si aún parece que hay poca gente, llega la antes mencionada figura del BSO, una persona "externa" pero que trabaja

para la organización y con la autoridad delegada para detener el trabajo si detecta problemas. Es la figura del policía de la instalación, pero también es quien asesora a la dirección sobre todos los temas que aparecen en estas instalaciones, desde los factores humanos hasta las soluciones de ingeniería aplicables. Como antes, existe una cuarta herramienta, de nuevo una traducción de AEBioS sobre un documento del Comité Europeo de Normalización (CEN), la UNE-CWA 16335 "Competencia profesional en bioseguridad", que nos ayudará a encontrar, o en su caso a formar, a la persona adecuada.

Séptima cuestión, ¿de verdad nos quedaron ganas de emprender este camino?

Pues si la respuesta es sí, lo primero que hay que hacer es armarse de paciencia. Son muchas las cosas que planear, coordinar, supervisar... Aun así, hoy en día ya disponemos de unas herramientas que nos van a guiar en el camino, desde qué exigir durante la construcción a cómo organizar el trabajo posterior: utilícelas, consúltelas y si hay dudas, acudan a las asociaciones que las editaron, como AEBioS, donde seguramente encontrarán la mayoría de las respuestas a sus preguntas.

Recuerden que sólo son herramientas y que, en España, aún no se ha conseguido implementar una cultura de la bioseguridad en nuestros dirigentes para que dichas herramientas comiencen no sólo a formar parte de las leyes, sino para que se pongan los medios adecuados para que la formación existente alcance grados de titulación oficial y aseguremos la competencia de todos los escalafones del personal que trabaja en ellos. Son instalaciones cada vez más necesarias y, aunque en los últimos años han surgido bastantes en España, no siempre logramos que haya una homogeneidad de criterios en su diseño, operación y sobre todo

control tanto interno como por parte de las autoridades competentes.

Una última cuestión: estas instalaciones deberían diseñarse para una vida útil de unos cuarenta años. Piensen cuando las construyan en que, al igual que las centrales nucleares, será necesario desmantelarlas con todas las garantías de seguridad y eso sólo se consigue en las fases del diseño inicial.

BIBLIOGRAFÍA

- *Canadian Biosafety Standard (CBS) and Canadian Biosafety Handbook (CBH)*, 2nd Edition. 2015.
<https://canadianbiosafetystandards.collaboration.gc.ca/>
- *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th Edition. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). U.S. National Institutes of Health (NIH). 2009.
<https://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/bmb1.pdf>
- www.aenor.es
- UNE-CWA 16335:2014. Competencia profesional en bioseguridad.
- UNE-CWA 16393:2014 Gestión del Riesgo biológico en el laboratorio. Guía para la aplicación del CWA 15793:2008.
- UNE-CWA 15793:2013. Gestión del riesgo biológico en laboratorio.
- Próxima aparición: Diseño de instalaciones de nivel 3 de contención biológica (NCB3 y ANCB3). UNE-EN 171400.
- Asociación Española de Bioseguridad. www.aebios.org
- *Laboratory biosafety manual*, 3rd Edition. WHO. 2004.
<http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/en/Biosafety7.pdf>

**PUBLIQUE SUS
ARTÍCULOS EN
NUESTRA REVISTA.
CONTÁCTENOS**

www.secal.es



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio



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®

RETTENMAIER IBÉRICA
S.L. Y CIA. S. COM.



Fibras diseñadas
por la naturaleza
Una compañía del grupo JRS

Travesera de Gracia 56, 2^o
08006 Barcelona

► ¡ Póngase en contacto
con nuestros expertos !

info@jrsiberica.com • Tel: 933 262 888



Yo, CRO

Raul Lloret

*Responsable de unidad de servicios
animalarios en CRO Vivotecnia*

Mi nombre es Raúl Lloret y soy el responsable de la unidad de servicios de animalario de la CRO de Vivotecnia, la cual se encuentra en las instalaciones que tenemos en Tres Cantos en Madrid. Actualmente mi función es la organización y coordinación del trabajo de los cuidadores/técnicos de los dos animalarios, uno de ellos de roedores y lagomorfos y el otro de grandes animales.

Hace cinco años, mientras realizaba las prácticas de un ciclo formativo de laboratorio en el Centro de Investigaciones Biológicas, escuché a mi tutora hablar con un antiguo alumno suyo junto al animalario del centro, así que investigando por internet, entregue mi currículum a Vivotecnia y aquí estoy desde entonces.



Imagen suministrada por la autoría

Recuerdo la sensación de sorpresa del primer día al ver los animales estabulados, la zona de lavado, los autoclaves, las cubetas, cómo se organizaba la gente para realizar los cambios y la limpieza del material... era la primera vez que veía algo así. Me enseñaron una piscina donde introducían ratones y me explicaron que se trataba de un test de comportamiento llamado *Morris Water Maze*. Para aquellos que no lo sepan es un test que se utiliza en estudios de memoria y aprendizaje y consiste en una piscina con agua teñida de un color donde se mide el tiempo que el animal tarda en alcanzar una plataforma.

La parte que más me gusta de mi trabajo, aunque parezca extraño, es el contacto con las personas, y si además añades trabajar con animales de distintas especies, pues qué más se puede pedir. De las especies de los animales de laboratorio, mi favorita son los perros, con los que además de las tareas de cuidado rutinarias, realizamos un *training* semanal para asegurar su bienestar. Este *training* consiste en el control de peso, corte de uñas, limpieza de oídos, toma de temperatura y lo más importante para su salud mental y física, manejo y contacto humano junto con ejercicio y juego diario.

El trabajo en una CRO varía constantemente, por lo que siempre estoy aprendiendo cosas nuevas

y espero no dejar de hacerlo nunca.

Me gustaría compartir una anécdota muy graciosa que me sucedió. En las instalaciones que tenemos de perros, los boxes están divididos en dos pisos, los cuales disponen de una plataforma a media altura por la que los animales acceden mediante una pequeña escalera. En una ocasión, limpiando uno de estos boxes, había un macho bastante dominante o "puñetero" que cada vez que me veía haciendo mis tareas se subía a la superficie de arriba y me orinaba en la cabeza, hasta que un día le di un pequeño susto con un chorro de agua y empezamos a llevarnos bien.

Quiero aprovechar, sabiendo que me están leyendo cuidadores de diferentes puntos de España, para agradecer el trabajo que realizan y recordarles la importancia del mismo. Una revisión bien hecha y un buen manejo de los animales, evita muchísimos problemas y errores en los resultados de los estudios. Es un aspecto necesario y fundamental para el avance y la calidad en la investigación.

Por último, agradecerle a Paloma García brindarme la

oportunidad de escribir en esta sección y así ayudar a otros compañeros a conocer el funcionamiento y trabajo en otros animalarios, y despedirme, no sin antes mencionar a Silvia Gómez y Jesús Illán, directores de Vivotecnia M&S y CRO, gracias a los cuales puedo disfrutar de mi trabajo cada día.



Imagen suministrada por la autoría



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

