

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

ANIMALES DE LABORATORIO

Primavera 2018. Número 77



Guía para la gestión del trabajo
bajo supervisión.

Histología del pez cebra,
Danio rerio (Parte I).

Actualización de las actividades
del laboratorio europeo
de referencia en métodos
alternativos (EURL ECVAM).

Entrevista:
David Muñoz y Viviana Bisbal.



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio



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

Introducing SHrN[®]

The most immunodeficient hairless model available.

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

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



envigo.com

Grupo Editor



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

www.secal.es

DIRECTORA

Lara Sedó
direccion.revista@secal.es

SUBDIRECTOR

Hernán Serna
hserna@binaex.com

EDITORES DE ESTILO E IMAGEN

Olga Fernández
omfr75@yahoo.es

PUBLICIDAD

David Mayo
publicidad.revista@secal.es

FOTO DE PORTADA

Shutterstock

DISEÑO Y MAQUETACIÓN

CONEXION E.P.
www.agenciaconexion.com.co

IMPRIME

LPG
lpgtextil@gmail.com

DEPÓSITO LEGAL
M-1362-1999

EDITORIAL

Una herramienta multifacética

Como versa en su inicio el artículo de la sección Tinciones y Tejidos de este número, ya nadie duda que el pez cebra es un modelo vertebrado multifacético de gran utilidad en la investigación. Se perfila como un modelo de alto rendimiento para reducir la brecha entre las células y los mamíferos. Hay muchas ventajas en el uso de este modelo en el *screening* de nuevos compuestos y es muy utilizado en investigaciones científicas, principalmente por su homología genética con el ser humano (compartimos con estos peces más de un 75% del genoma).

Siguiendo el hilo del artículo, este despliegue de utilidades como modelo se complementa con el estudio de su fisiología, anatomía e histología; completando así el conjunto de conceptos y conocimientos necesarios para terminar de entender el pez cebra, como esa herramienta multifacética que todos reconocemos de gran utilidad para la investigación.

Es por esto que en este número y el siguiente daremos un papel protagónico y de forma resumida a la histología de los principales órganos del pez cebra adulto, explicándolo como si se tratara cada vez de una pieza distinta de un coche, su localización, descripción y funcionamiento.

Dirección Revista SECAL

EDITORIAL

JUNTA DE GOBIERNO

PRESIDENCIA

Teresa Rodrigo Calduch (2015-2019)

SECRETARÍA

Clara Muñoz Mediavilla (2015-2019)

TESORERÍA

David Muñoz Valverde (2015-2019)

VOCALÍAS

Helena Paradell Trius (2015-2019)
Hernán Serna Duque (2015-2019)
Sergi Vila Bellmunt (2015-2019)
José Luis Martín Barrasa (2015-2019)

VICEPRESIDENCIA

Isabel Blanco Gutiérrez (2017-2021)

VICESECRETARÍA

Julia María Samos Juárez (2017-2021)

VICETESORERÍA

Viviana Bisbal Velasco (2017-2021)

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
- ▶ ZOONLAB 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.
- ▶ IDEXX BIORESEARCH





Directora
LARA SEDÓ
direccion.revista@secal.es



Subdirector
HERNÁN SERNA
Hserna@binaex.com



Editor de estilo e imagen
OLGA FERNÁNDEZ
omfr75@yahoo.es



Publicidad
DAVID MAYO
publicidad.revista@secal.es

RESPONSABLES DE SECCIÓN



Noticias Secal / Actualidad
CRISTINA GERBOLÉS
kgerboles@gmail.com



Técnicas
MARÍA GRANADA
mpicazo@sescam.jccm.es



Ética y legislación
Seguridad en 5 minutos
JESÚS MARTÍNEZ
jesus.martinez@ciemat.es



¿Y tú qué opinas?
JOSÉ LUIS MARTÍN
jimbarrasa@gmail.com



Libros y páginas web
SERGI VILA
sergivilab@gmail.com



Factor Humano
JAVIER FIDALGO
fidalgo@ocelata.com



Al cuidado
DANIEL DEL OLMO
olmo@vivotecnica-ms.com



Panorama
LUIS MUÑOZ
imp@usal.es



Control sanitario
SANDRA BARBOSA
sandra.barbosa@uab.cat



Reproducción y genética
GONZALO MORENO
g.moreno@umh.es



Anestesia y analgesia
JAVIER BENITO
benedictusvip@hotmial.com



In vitro
GUILLERMO REPETTO
grehpkuh@upo.es



Bienestar animal
SÍLVIA CUFÍ
scufigonzalez@gmail.com



CEEA-OH
ALBERTO PASTOR
albertopastor@umh.es



Tinciones y tejidos
ANA NIETO
anieto@ugr.es

Han colaborado en este número:

Teresa Rodrigo, Directora Unitat d'Experimentació Animal de Farmàcia i Unitat d'Experimentació Animal de Psicologia / **Helena Paradell**, Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L. / **Rubén Mota**, Veterinario responsable del CNIC / **Marta Giral**, Responsible of Animal Welfare and Designated Veterinarian Animal Research Facilities Almirall / **Juan Rodríguez**, Consultor y asesor / **Isabel Blanco**, Head of Animal Facility CNIO / **Neus Morera**, Consultora y asesora en medicina y cirugía de exóticos freelance / **Davinia Hernández**, Técnico de animalario, Universidad Rey Juan Carlos / **Beatriz Albella**, Vocal del Órgano Encargado del Bienestar Animal y Órgano Habilitado del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT) / **Ana M. Santos**, Unidad de Microscopía Centro de Instrumentación Científica, Universidad de Granada / **Marta Casado**, Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC) / **David Ayensa**, Veterinario y Director Granja San Bernardo.

ÍNDICE ÍNDICE ÍNDICEÍ

EDITORIAL

8 NOTICIAS

- Jubilación de Manuel Moreno, socio nº 105 de la SECAL.

10 ARTÍCULO

- Guía para la gestión del trabajo bajo supervisión.

30 BIENESTAR ANIMAL

- Bienestar en animales de experimentación: Conejos.

37 REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

- Deriva génica: Un obstáculo evitable.

42 TINCIONES Y TEJIDOS

- Histología del pez cebra, *Danio rerio* (Parte I).

50 CONTROL SANITARIO

- PEP ICLAS PROGRAM: Una herramienta para la evaluación del diagnóstico de muestras para monitorización de patógenos en animales de laboratorio.

54 ÉTICA Y LEGISLACIÓN

- *Oh My God* ¿Son los mutantes inducidos Organismos Modificados Genéticamente?

57 IN VITRO

- Actualización de las actividades del laboratorio europeo de referencia en métodos alternativos (EURLECVAM).

65 TÉCNICAS

- Intubación endotraqueal a ciegas en conejos.

69 SEGURIDAD EN 5 MINUTOS

- Un nuevo riesgo identificado con el uso de desinfectantes.

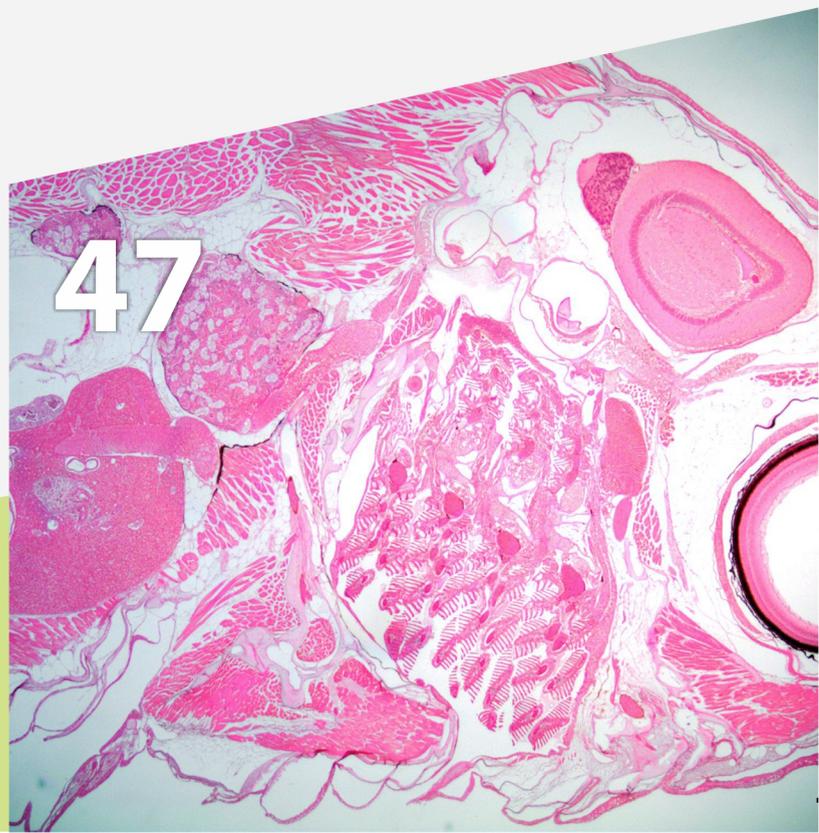
72 ALCUIDADO

- Aprendiendo a enseñar.

75 ENTREVISTA

- David Muñoz y Viviana Bisbal: Tesoreros actuales de la Junta de Gobierno de la SECAL.

47



Cursos reconocidos por la autoridad competente para obtener las Funciones A, B, C, D y E y válidos en toda España. Matrícula reducida para las personas procedentes de SECAL

Una formación de calidad para una investigación de
calidad

Su bienestar es nuestro
bienestar

 sociedad española para las ciencias del animal de laboratorio

Con la colaboración de SECAL



Animalaria
Formación y Gestión S.L.

www.animalaria.org Tel. +34 699921930
animalaria@animalaria.org

Jubilación de Manuel Moreno, socio nº 105 de la SECAL

El pasado miércoles 21 de Marzo, unos cuantos amigos nos reunimos para celebrar la jubilación de Manuel Moreno (ver Figura 1), socio nº 105 de nuestra sociedad, inscrito en 1990 y que ha sido Director del Animalario del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) durante muchos años.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Manuel Moreno.

Manolo, como le conocemos todos, llegó a un animalario pequeño y antiguo, y lo cambió logrando que, actualmente, sea una instalación de excelencia dentro del CIB y del CSIC. Dio un empuje a la formación en nuestro País al organizar uno de los cursos más antiguos, años 90, y más conocidos de nuestra profesión, organizado a través del Gabinete de Formación del CSIC, consiguiendo ser acreditado por FELASA en el año 2003. Este curso estaba organizado con la colaboración de Carmina Criado, Nieves Salvador y Javier Palacín.

Permitió gracias al tesón de todos ellos, la profesionalización de nuestro sector. Por estos cursos (ver Figura 2) han pasado muchos socios de la SECAL, que seguro tienen muy buen recuerdo. Recordamos el buen ambiente que se vivía, propiciado sin duda por Manolo: aquellas prácticas que duraban tres días y en las que se enseñaban todo tipo de procedimientos; la entrega personal de los certificados que se organizaba cual *acto institucional* con foto incluida; resultaban especialmente divertidas y entrañables las cenas de fin del curso, con alumnos y profesores. De estos cursos surgieron muchos socios de la SECAL.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Curso por el que pasaron muchos de los socios de la SECAL.

Dentro de nuestra sociedad fue secretario y, posteriormente, presidente del 2009 al 2011 poniendo su granito de arena en la SECAL que, actualmente, es un poquito mejor, sin duda gracias a personas como Manolo.

Fue una comida muy especial y entrañable en un restaurante del Pardo llamado "La Plaza" (ver Figura 3). Durante la misma, se habló de la SECAL, de las juntas, de los viajes a Zaragoza para asistir a las Juntas, de los congresos y de muchas anécdotas que todos tenemos. Como era de esperar, hubo regalos y no faltó una figura de un ratón en porcelana y un GPS de montaña con altímetro. Para los que no lo sepan, Manolo tiene una gran pasión, la montaña, y ha llegado a escalar el Everest en compañía de un grupo de amigos con los que comparte este *hobby*. Le deseamos a Manolo que en esta nueva singladura que ha iniciado, realice todas las marchas y escaladas que tiene pendientes y que cada vez que consulte el GPS, se acuerde de todos nosotros.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Manolo junto otros compañeros de la SECAL.

Gracias Manolo por todo lo que hemos compartido contigo.

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 para la Gestión del Trabajo Bajo Supervisión

Grupo de Trabajo de la SECAL

A. Pastor Campos, E. de la Cueva Bueno, J. Martín Zúñiga, R. Frías y C. Muñoz (Coordinador)

ÍNDICE

1. Objetivo	11
2. Introducción	11
3. Responsabilidades	11
3.1. Responsable Administrativo del Establecimiento (RAE)	11
3.2. Responsable <i>In Situ</i> del Establecimiento (RISE)	12
3.3. Responsable de Formación y Capacitación Designado (RFCD)	12
3.4. Supervisor	12
3.5. Evaluador	13
3.6. Personal que trabaje o pretenda trabajar con animales de experimentación	13
4. Fases del trabajo bajo supervisión (TBS)	13
4.1. Designación del Supervisor/Evaluador	13
4.2. Valoración de las tareas realizadas y habilidades adquiridas	14
4.2. A Características Principales del Sistema de Valoración (SdV)	14
4.2. B Plan de Trabajo	15
4.2. C Criterios de Evaluación (CdE)	16
4.2. E Control de Calidad	18
4.2. F Propuesta de Tareas y Habilidades a Evaluar	18
4.3. Cumplimentación de los Registros	24
4.4. Superación del TBS	24
4.5. Solicitud de reconocimiento de la capacitación	24
4.6. Excepciones	25
4.6. A Solicitud de inicio de realización del TBS antes de finalizar los cursos formativos	25
4.7. B Solicitud de autorización del TBS fuera de un establecimiento cuando intervengan animales silvestres	25
5. Bibliografía	25
Anexo I	26
Anexo II	27
Anexo III	28

1. OBJETIVO

La Orden ECC/566/2015 (1) define el trabajo bajo supervisión como el desarrollo de las funciones en un entorno real de trabajo bajo el seguimiento y control de un profesional competente en las tareas objeto de supervisión, una vez superados los contenidos teórico-prácticos de un curso.

El objetivo del presente documento es establecer una guía para la implementación del Trabajo Bajo Supervisión (en adelante, TBS) en las distintas instituciones y empresas en las que se realiza investigación con animales.

En esta guía definimos las fases necesarias para la superación del TBS, así como una serie de criterios, estándares y mecanismos en base a los que se propone diseñar un Sistema de Valoración (SdV) del desempeño de las tareas realizadas y/o de las habilidades adquiridas por el personal durante su período de trabajo bajo supervisión (TBS, según lo previsto en la *Orden del Ministerio de Economía y Competitividad ECC/566/2015*). Se pretende elaborar un instrumento de evaluación que presente como principales características la claridad, la estandarización y la objetividad del proceso de valoración.

El objetivo final de la aplicación de un SdV es garantizar que, tras completar el TBS, el personal ha alcanzado un nivel de capacitación adecuada en determinadas tareas y/o habilidades, antes de que pueda llevar a cabo cualquier actividad de manera autónoma, encuadrada dentro de las distintas funciones.

2. INTRODUCCIÓN

Según el Real Decreto 53/2013 (2), el proceso de adquisición de la competencia necesaria para trabajar con animales de experimentación requiere de un TBS para el desarrollo de las siguientes funciones:

- Función a: Cuidado de los animales
- Función b: Eutanasia de los animales.
- Función c: Realización de los procedimientos.

Dicho TBS no forma parte de los cursos de formación dirigidos a alcanzar los resultados de aprendizaje exigidos en la misma orden, ya que no tiene la consideración de clase práctica, pero debe acompañarlos con el fin de obtener el reconocimiento de la capacitación inicial. De una primera lectura de los requisitos generales para la realización del TBS, establecidos asimismo en la mencionada Orden, cabe destacar las siguientes características:

- El TBS consiste en el desempeño de tareas y/o adquisición de habilidades propias de la función para la que se busca la capacitación.
- El TBS se realizará en un entorno real de trabajo (p. Ej. en un establecimiento autorizado).
- El TBS debe estar sometido a seguimiento y control por un profesional competente (definido como formador para terceros en el documento de trabajo de la UE, ver 3).
- La realización del TBS debe ser posterior a la superación del curso teórico-práctico acreditado por la autoridad competente (si bien, hay previstas ciertas excepciones que posibilitan comenzar el TBS antes de finalizar dicho curso como, por ejemplo, tareas de cuidado que no conlleven dolor, estrés o sufrimiento a los animales).
- El TBS de la función [c] debe realizarse en el marco de un proyecto de investigación con animales autorizado.

3. RESPONSABILIDADES

La asignación de responsabilidades es a menudo compleja, especialmente por la cantidad de figuras que se han generado en los últimos años con las distintas normativas y recomendaciones. En este apartado hablamos de varias figuras recogidas en nuestra normativa y añadimos una adicional siguiendo las recomendaciones de LASA, el Responsable de Formación y Capacitación Designado (RFCD). Las funciones del RFCD en nuestra normativa están incluidas dentro de la figura del Responsable *In Situ* del Establecimiento (RISE), si bien se indica que éste puede delegar ciertas funciones. La función del RFCD es una de las más adecuadas para delegar, ya que consiste en asegurar que todo el personal que trabaja con animales está adecuadamente formado y entrenado, así como que es supervisado para garantizar que la competencia sea demostrable y mantenida en el tiempo. Dada la magnitud que supone este objetivo y el perfil técnico necesario para llevarlo a cabo con éxito (perfil que a menudo no posee el RISE), hemos considerado interesante incluir esta nueva figura a modo de recomendación.

3.1 Responsable Administrativo del Establecimiento (RAE)

La figura del responsable administrativo del centro usuario aparece en el RD 53/2013, como la persona encargada de dar el visto bueno a la solicitud de autorización de proyectos que se envían a los órganos competentes. Además, en la Guía para la aplicación de la *ECC/566/2015*, se recogen las siguientes funciones para este RAE:

- El RAE, o la persona en quien delegue, designa al supervisor. También es admisible que la designación la haga el responsable *in situ* del establecimiento.
- El RAE emitirá el certificado de superación, en su caso, del periodo de supervisión, que indicará al menos la función, el número de horas y la identificación del supervisor. El certificado debe incluir también las especies con las que ha trabajado, y en el marco de qué proyecto autorizado (cuando se haya participado en procedimientos). Cuando la normativa interna del establecimiento lo prevea, el RAE podrá delegar la expedición del certificado en otros órganos.
- Si el alumno pretende iniciar el TBS antes de finalizar los cursos formativos y por un tiempo máximo de 6 meses, el RAE debe aportar un escrito avalando la solicitud. En este escrito se identificará el trabajo a realizar, se indicará la persona que va a realizar la supervisión y, en el caso de la función de realización de procedimientos (función [c]), incluirá una declaración responsable (del responsable administrativo) comprometiéndose a que las actuaciones sobre los animales correspondan a un procedimiento clasificado como «leve» o «sin recuperación». También podría considerarse un escrito por parte del responsable *in situ*.
- Para solicitar una autorización para hacer el TBS fuera de un establecimiento cuando intervengan animales silvestres, se requiere solicitud presentada por la persona que va a realizar el TBS, con el visto bueno del RAE y el responsable del proyecto implicado.

3.2 Responsable *In Situ* del Establecimiento (RISE)

La figura del RISE aparece tanto en la normativa española como en la Guía para la aplicación de la ECC/566/2015.

Entre las funciones del RISE se encuentran:

- Velar por que el personal:
 - Esté formado y capacitado.
 - Tenga acceso a formación continua.
 - Se someta a un periodo bajo supervisión antes de que se demuestre su capacitación.
- Participar en el proceso de supervisión. En todo caso, si la persona que tenga esta responsabilidad en el establecimiento es distinta de la que ha supervisado el TBS, sería muy recomendable que diese su visto bueno al informe emitido por el supervisor.

- Diseñar un sistema de seguimiento de la formación y capacitación de los usuarios del establecimiento del que es responsable. En concreto:
 - Establecer un plan de formación formal para cada usuario, en el que se recojan sus objetivos personales y los conocimientos prácticos y teóricos que necesita.
 - Almacenar los informes de formación y capacitación que adquiere el usuario a lo largo del tiempo: registros.
 - Revisar regularmente: la formación, la competencia y el plan de desarrollo personal de los usuarios.

Este sistema de seguimiento de la formación y la competencia permite garantizar la trazabilidad necesaria para el correcto reconocimiento de la capacitación entre países miembros de la UE.

3.3 Responsable de Formación y Capacitación Designado (RFCD)

El RISE, tal y como recoge el RD 53/2013, es responsable de velar por que el personal esté adecuadamente formado, esté capacitado, tenga acceso a una formación continua y que, mientras no haya demostrado tal capacitación, esté sometido a supervisión por personal capacitado. Dada la complejidad de esta tarea y el perfil técnico requerido, el RISE puede delegar estas tareas relacionadas con la formación y la capacitación en el RFCD, figura que se recoge en el documento "*Guiding Principles for Supervision and Assessment of Competence as required under EU and UK legislation*" de LASA (4).

3.4 Supervisor

El supervisor designado debe contar con la capacitación para la función que supervise o categoría profesional equivalente, anterior a la Orden ECC/566/UE.

El TBS puede requerir de la supervisión de más de una persona. No se debe descartar la posibilidad de que puedan participar en un mismo caso más de un supervisor, especialmente cuando esté implicada más de una especie, se usen animales silvestres, lo aconseje la complejidad del TBS o uno de los supervisores haga las funciones de evaluador.

El supervisor debe disponer de tiempo real para realizar la tarea de supervisión, ya que en muchas ocasiones tendrá que estar presente cuando el supervisado realice las tareas. De manera

genérica, el supervisor se compromete a supervisar presencialmente al alumno siempre que realice un procedimiento que pueda causarle al animal estrés, malestar, dolor o angustia, al menos, hasta que el alumno adquiera la destreza suficiente para realizar dicho procedimiento sin esa supervisión presencial.

El supervisor, o supervisores, finalizará su trabajo de supervisión emitiendo un informe, en el que se especifiquen al menos: el trabajo realizado, su duración y la lista de tareas y habilidades cuya superación se ha comprobado. En todo caso se indicará si el informe es favorable o desfavorable.

3.5 Evaluador

El RAE, RISE y/o RFCD deben determinar cómo se va a realizar la evaluación efectiva de la superación del TBS.

Para darle imparcialidad a este procedimiento lo recomendable es que la persona encargada del seguimiento del TBS no sea a la vez la única encargada de la evaluación. Esto podría solucionarse asignando dos supervisores, de manera que uno de los dos no pertenezca al grupo de investigación, o estableciendo algún mecanismo interno de verificación de los contenidos recogidos en el Registro del TBS mediante la evaluación del alumno durante la realización del TBS. Esta evaluación podría realizarse a todos los alumnos o a una muestra de ellos, a criterio del responsable encargado de la formación y competencia del centro. Es importante en este proceso la comunicación constante y fluida en este aspecto con el responsable *in situ* del bienestar animal y el veterinario designado.

3.6 Personal que trabaje o pretenda trabajar con animales de experimentación

Toda persona que realice o pretenda realizar alguna de las funciones recogidas en el artículo 15.2 del *Real Decreto 53/2013* debe:

- Realizar los cursos de formación acreditados necesarios para obtener la función o funciones que necesite antes de comenzar a trabajar con animales.
- En el caso de las funciones a, b y c, además, realizar el TBS en la forma y condiciones establecidas por la normativa, la autoridad competente y la propia institución.
- Solicitar el reconocimiento de la capacitación para las funciones y especies necesarias, una vez superados los cursos de formación y el TBS correspondientes, a la autoridad competente.

- Conservar todos los informes, registros, diplomas, acreditaciones y homologaciones relacionadas con la formación y capacitación en materia de experimentación animal.
- Cumplir con los requisitos de formación y capacitación continua establecidos en la normativa.

4. FASES DEL TRABAJO BAJO SUPERVISIÓN (TBS)



4.1 Designación del Supervisor/Evaluador:

El RAE, o persona en quien delegue, es el responsable de designar el/los supervisor/es. En muchos centros esta función puede asumirla con garantías el RISE o el RFCD. Para ello, debe establecerse un procedimiento para designar dichos supervisores. Los supervisores deben demostrar que cumplen los requisitos para ser formadores de terceros.

En establecimientos grandes lo recomendable es que la designación se realice tras la solicitud previa del alumno. Dicha solicitud debería realizarse en base a un formulario que recoja la información más importante en relación al TBS:

- Identificación del alumno (nombre y DNI).
- Identificación del supervisor/es (nombre y DNI).
- Categorías o funciones acreditadas del supervisor o supervisores, en base a las cuales está capacitado para asumir las tareas de supervisión (formador para terceros). Antigüedad de dichas acreditaciones.
- Funciones y especies o grupos de especies que el alumno desea que sean supervisadas.
- Diploma de superación del curso acreditado que le permite realizar el TBS en esa especie o grupos de especies.
- Declaración responsable del supervisor o supervisores comprometiéndose a realizar las tareas para las que va a ser designado.

Puede consultar un ejemplo de formulario de solicitud de reconocimiento de un supervisor en el Anexo I.

Una vez recibida la solicitud, el RAE o persona en quien delegue, debe evaluar la competencia del supervisor siguiendo los criterios descritos en el apartado 4.2.D.3 Competencia del Supervisor/Evaluador.

Por su parte, la designación del evaluador, si se quiere dotar de imparcialidad al proceso de evaluación, debería ser ajena a la solicitud del alumno de TBS y seleccionarse en función de la competencia específica para el TBS solicitado, por el RAE o persona en quien delegue.

Si se resuelve que el supervisor cumple los requisitos establecidos, el RAE o persona en quien delegue debe elaborar un informe de aceptación de dicho supervisor y remitirlo al interesado.

4.2 Valoración de las tareas realizadas y habilidades adquiridas

4.2.A Características Principales del Sistema de Valoración (SdV)

Las tareas y/o habilidades relacionadas con la función de cuidado de los animales (función [a]) son muy numerosas, diversas y normalmente presentan un grado de variabilidad grande entre instituciones en cuanto a la forma en que se llevan a cabo en la práctica (para la misma tarea o equivalente). Esto supone que la decisión sobre si una persona está capacitada o no para el desempeño de una función es difícil de estandarizar, siéndole inherente a esta decisión un grado de subjetividad que no es deseable y que se aparta de la filosofía de la Directiva 2010/63/UE (5). Tanto la legislación vigente como las recomendaciones internacionales sobre el uso y cuidado de animales apuntan en una dirección que busca la estandarización de métodos y procesos, allá donde sea posible. Por ello, alcanzar un alto grado de consenso en cuanto al diseño y aplicación de un SdV del TBS está en línea con dichas normas.

Con el objeto de centrar el “problema” de la valoración de la capacitación, se enuncian las tres preguntas clave que busca responder el SdV propuesto:

- **¿Qué se valora?** Es decir, qué tareas y/o habilidades (qué número mínimo de tareas/habilidades permite reconocer la capacitación para desarrollar la función [a] y/o [b]) van a ser objeto de evaluación. En la práctica esta cuestión tendrá respuesta en la elaboración de un Plan de Trabajo concreto (PdT, ver más adelante), por parte del supervisor o supervisores.

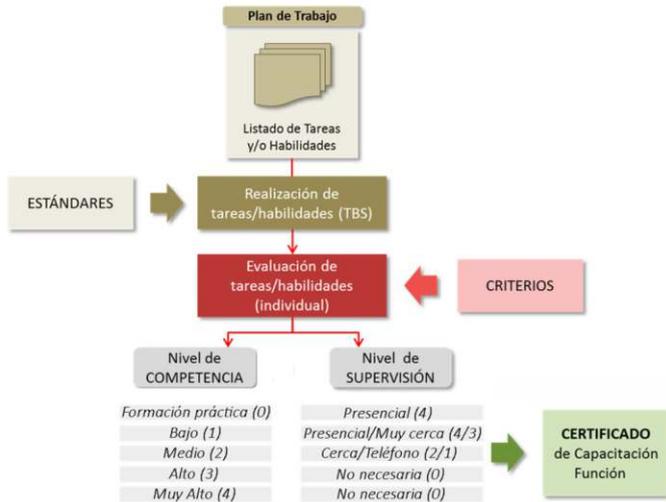
- **¿Cómo se valora?** La evaluación de las tareas y/o habilidades se hará de la manera más objetiva posible, y en cualquier caso en base a criterios y estándares previamente fijados, según las guías y recomendaciones refrendadas por las autoridades.
- **¿Quién valora?** Se deben establecer también criterios de competencia para la persona encargada del seguimiento y control del TBS y, en su caso, para la/s persona/s responsable/s de la evaluación de tareas y/o habilidades individuales. Estas personas deben demostrar que cumplen los requisitos para ser formadores para terceros.

Por supuesto, como punto de partida se asume que todos los requisitos dispuestos y exigidos en la normativa aplicable en cuanto a formación, titulación académica, capacitación profesional, etc., han sido satisfechos y que se han realizado (y superado) los cursos de formación específica modular con carácter previo a la realización del TBS. Esto debe garantizar que se han alcanzado unos conocimientos teórico-prácticos indispensables para adquirir la capacitación. Debe ser el RAE, o persona en quien delegue, en el que se va a desarrollar el TBS, el encargado de verificar que todo lo anterior se ha cumplido.

La correcta aplicación de un SdV, en definitiva, busca garantizar que el alumno:

- Es “objetivamente” competente para desempeñar la función [a], [b] y/o [c].
- Domina un número mínimo de tareas y habilidades básicas, y que las ejecuta de forma autónoma.
- Entiende la posibilidad de aplicar diferentes técnicas, estándares y metodologías en función de las condiciones particulares de la instalación, la especie animal, las características de un procedimiento experimental, etc.
- Entiende la importancia de desempeñar de manera correcta la función.
- Entiende que un desempeño inapropiado de la función tiene consecuencias negativas sobre el bienestar animal.
- Entiende que un desempeño inapropiado de la función afecta potencialmente los resultados experimentales.
- Es capaz de identificar los principales problemas que pueden surgir durante el desempeño de la función, y tomar las decisiones oportunas de forma diligente.
- Es capaz de anticipar problemas y complicaciones.
- Reconoce la dimensión ética inseparable del desempeño de la función.
- Conoce las implicaciones prácticas de los principales aspectos del marco legislativo que afecta al desempeño de la función.

En base a todo lo anterior, la estructura y la operativa del SdV aquí propuesto pueden resumirse en el siguiente esquema:



Se comienza con la elaboración de un Plan de Trabajo (que contendrá las tareas a realizar, duración, evaluadores, etc.) y, en base a lo dispuesto en éste, se inicia el aprendizaje de las tareas o la enseñanza de las habilidades según una serie de estándares preestablecidos por la institución en que se realiza el TBS. La evaluación de las tareas/habilidades se llevará a cabo de modo "continuo", hasta que, mediante la práctica, la persona alcance un nivel medio de competencia y en el desempeño de la tarea en cuestión o la adquisición de la habilidad concreta. El TBS se considerará superado satisfactoriamente una vez que se haya alcanzado el nivel medio en competencia, lo que implica un nivel de supervisión necesario no presencial, para todas las tareas/habilidades listadas inicialmente.

4.2.B Plan de Trabajo

El PdT es el documento clave para la correcta aplicación del SdV y debe ser elaborado y acordado por el supervisor y el alumno antes de que dé inicio el TBS. La misión de este documento es, por un lado, establecer el marco en el que se va a desarrollar el TBS y señalar a las personas responsables de la supervisión y la evaluación y, por otro, enumerar las tareas y/o habilidades que van a ser objeto de evaluación. Para poder optar al certificado de superación del TBS, el PdT debe incluir un número significativo de tareas y/o habilidades y tener una duración adecuada. En relación a la autorización de las actividades incluidas en el PdT, en el caso de la función [c] quedarán autorizadas por el mero hecho de trabajar en el marco de un proyecto autorizado. El PdT de las funciones [a] y [b] podría ser estándar en una institución.

No obstante, es más complicado definir un estándar para la función [c], por lo que en este caso debería confeccionarse un itinerario o ruta de tareas habilidades *ad hoc* para cada alumno. Las actividades incluidas en el PdT de la función [c] deben haber sido previamente aprobadas en el marco del proyecto de investigación autorizado.

Cada comunidad autónoma debería publicitar los mínimos de referencia y la obligación de que, si el TBS tiene una duración menor, se justifique adecuadamente en el informe del supervisor.

A modo orientativo podemos indicar que CCAA como Andalucía proponen una carga horaria para la función [c] de 35 horas más 10 horas por grupo de especies. Otras, como la Comunidad Valenciana, recomiendan 100 horas más 20 adicionales por grupo de especies (mínimo 120).

La duración mínima sugerida del TBS, a falta de otras directrices de la autoridad competente es:

- Función [a]: 20 horas + 5 horas por grupo de especies (mínimo 25 horas).
- Función [b]: 10 horas + 5 horas por grupo de especies (mínimo 15 horas).
- Función [c]: 100 horas + 20 horas por grupo de especies (mínimo 120 horas).

En el caso de que la especie sea primates, el número de horas referidas a este grupo de especies será: 10 horas [a], 10 [b] y 40 [c]. Si el alumno realiza el TBS de varias funciones, el número de horas mínimo será la suma de las horas mínimas correspondientes a cada función.

Esta duración no es obligatoria, ya que la Orden ECC/566/2015 no establece mínimos obligatorios, como hace, por ejemplo con la duración de los cursos. De hecho, dicha Orden recoge que la duración podrá ser variable en función de la evolución del proceso de adquisición de habilidades (artículo 11.5 b). Debe considerarse una referencia para los centros de forma que:

- Esos mínimos sean la norma general, que si se cumple no requiere justificación alguna. Es decir, es siempre suficiente.
- En los casos en los que el centro de trabajo justifique adecuadamente en un caso concreto de un solicitante un periodo menor de la supervisión debido a razones tales como una complejidad muy baja de la tarea o una aptitud personal muy elevada, y así se refleje en el informe del supervisor, se podría aceptar una duración inferior.

Por tanto, la duración del periodo de supervisión y el tiempo necesario para obtener la competencia también variarán, por ejemplo debido a la frecuencia/disponibilidad de la tarea que se debe realizar, la complejidad técnica y las aptitudes personales.

Asimismo, en el PdT se debe detallar, para cada tarea y/o habilidad, la especie animal con la que se va a trabajar, modificando la duración del mismo según corresponda.

Todas las tareas incluidas en un PdT deberían estar estandarizadas y descritas en procedimientos normalizados de trabajo (PNTs) que deben estar basados en recomendaciones publicadas por organismos reconocidos internacionalmente en el ámbito de la experimentación animal (SECAL, FELASA, ICLAS, AAALAC, etc.).

4.2.C Criterios de Evaluación (CdE)

Se considera crítico para que el SdV pueda ser aplicado de forma eficaz y homogénea por diferentes instituciones, que los Criterios de Evaluación (CdE) sigan los siguientes principios:

- Todas y cada una de las tareas y habilidades a evaluar deben contar, para su adecuada evaluación, con un estándar de desempeño claro y concreto. Por ello, se considerará imposible evaluar adecuadamente una tarea o habilidad para la que no exista un estándar previamente definido (y consensuado, en su caso).
- En la medida de lo posible, los CdE deben estar basados en la aplicación práctica de conocimientos adquiridos durante los cursos de formación.
- Para que el SdV sea eficaz, éste debe contar con un sistema de "control de calidad".

Los criterios de evaluación se dividen en dos grandes grupos: aquellos relacionados con la competencia de la persona en el desempeño de una tarea, y aquellos relacionados con el nivel de supervisión que dicha persona necesita durante el desempeño de dicha tarea en el momento de la evaluación.

4.2.C.1 Evaluación del Nivel de Desempeño

El nivel de desempeño es un indicador de la solvencia con la que una persona es capaz de llevar a cabo una tarea concreta. En la determinación de dicho nivel influyen aspectos como los conocimientos y la capacidad práctica para aplicarlos, la experiencia, la capacidad crítica y de análisis, las habilidades adquiridas y/o desarrolladas, etc.

Se establecen 5 niveles (ordenados de menor a mayor) del nivel de competencia: formación práctica, bajo, medio, alto y muy alto. A estos niveles de competencia le corresponden 5 niveles de supervisión: 4, 3, 2, 1 y 0, tal y como aparece en la siguiente tabla:

Nivel de COMPETENCIA	Nivel de SUPERVISIÓN
Formación práctica (0)	Presencial (4)
Bajo (1)	Presencial/Muy cerca (4/3)
Medio (2)	Cerca/Teléfono (2/1)
Alto (3)	No necesaria (0)
Muy Alto (4)	No necesaria (0)

Los **niveles de supervisión** son los siguientes:

4: El supervisor está presente cuando se realiza el procedimiento, ofrece una supervisión directa y asesora.

3: El supervisor sabe cuándo se van a realizar los procedimientos y puede acudir rápidamente si es necesario (es decir, se encuentra cerca del procedimiento).

2: El supervisor sabe cuándo se van a realizar los procedimientos y puede acudir y dar consejos si es necesario (es decir, se encuentra cerca del establecimiento).

1: El supervisor sabe cuándo se van a realizar los procedimientos y está disponible para hablar y dar consejos si es necesario (es decir, por teléfono).

0: No es necesaria la supervisión.

La asignación de un nivel está basada en criterios que deben ser, de acuerdo con el espíritu del SdV, lo más objetivos que sea posible:

- **Formación práctica: La persona sabe qué hacer.** La persona ha superado un curso teórico y se encuentra en el periodo inicial de formación práctica de la tarea en cuestión. La persona desconoce o titubea sobre los estándares de desempeño aplicables. A dicha persona, al haber completado el correspondiente curso teórico, se le suponen unos conocimientos pertinentes, aunque de imposible aplicación hasta no incorporar al menos la información de los PNTs que dirigen la ejecución de la tarea en cuestión. La persona sólo puede realizar la tarea con un nivel de supervisión máximo

(supervisión nivel 4) mientras que no demuestre que sabe cómo realizarla adecuadamente.

- **Bajo: La persona sabe cómo hacerlo.** La persona posee los conocimientos teóricos necesarios y ha recibido formación práctica. La persona está familiarizada con los estándares de desempeño, pero que, por haber realizado la tarea sólo de forma ocasional o durante un corto espacio de tiempo, no posee la destreza y soltura necesarias para ejecutarla de forma fiable y metódica. Por lo general, este nivel de competencia lleva asociado un nivel de **supervisión 3**, p. Ej. el supervisor sabe cuándo se van a realizar los procedimientos y puede intervenir rápidamente si es necesario (es decir, se encuentra cerca del procedimiento), **o 4** si la persona aún necesita supervisión total para algunos procedimientos que puedan resultar más complejos.
- **Medio. La persona muestra cómo se hace.** La persona que es capaz de mostrar cómo ejecutar una tarea sin instrucciones directas (de un supervisor) y sin necesidad de recurrir constantemente al PNT de referencia o a cualquier otro estándar de desempeño. En general, al alcanzar este grado de competencia ya no es necesaria una supervisión directa y constante, por lo que el **nivel de supervisión adecuado será 1 o 2** (procedimientos complejos, etc.). En este nivel 1 de supervisión, el supervisor sabe cuándo se van a realizar los procedimientos y está disponible para hablar y dar consejos si es necesario (es decir, por teléfono). En el nivel 2 de supervisión, el supervisor sabe cuándo se van a realizar los procedimientos y puede acudir y dar consejos si es necesario (es decir, se encuentra cerca del establecimiento).
- **Alto: La persona hace (es capaz de llevar a cabo la tarea).** La persona es capaz de llevar a cabo la tarea de manera fiable, metódica, en solitario y cumpliendo con todos los estándares de desempeño, y además es capaz de identificar problemas y proponer soluciones y mejoras en los procedimientos. Este nivel corresponde al **nivel 0 de supervisión** y, por tanto, no es necesaria la supervisión.
- **Muy alto: Formador de terceros.** La persona llega al grado de especialista en la ejecución de una tarea o habilidad. Además de ejecutar la tarea, el especialista es capaz de identificar y resolver problemas, manejar situaciones delicadas o de emergencia y, en general, tomar decisiones en cuanto a desviaciones puntuales de los estándares. La persona está capacitada para formar y supervisar al personal. Las personas

con una capacitación muy alta son también conscientes de los adelantos y tendencias en el ámbito específico de la tarea y pueden sugerir e implementar el refinamiento de técnicas, mejoras procedimentales, variaciones, etc. Obviamente, el personal con este nivel de competencia puede supervisar cualquier actividad para la que esté capacitado con un nivel de desempeño muy alto.

4.2.C.2 Competencia del Supervisor/Evaluador

La competencia del supervisor de una tarea o habilidad es un aspecto de suma importancia, ya que el resultado de la supervisión y evaluación se va a ver necesariamente afectado por la competencia personal del supervisor. Lo que nos enseña la práctica diaria es que cuanto menor es la capacitación profesional del supervisor, mayor es la tendencia a actuar de forma menos sistemática y rigurosa en el proceso de supervisión. Conviene recordar aquí que el hecho de ser competente para una tarea o habilidad determinada no significa necesariamente que se sea competente para otra distinta o en otras especies. Por ello, la supervisión de las tareas y habilidades del PdT puede requerir de la participación de varios supervisores.

Del documento de trabajo de la Comisión Europea y la Guía para la aplicación de la *ECC/566/2015* se establecen los siguientes requisitos para ser formador para terceros:

- Disponer de unos conocimientos adecuados y actualizados y ser competente en los procedimientos:
 - Capacitación de la función (o categoría equivalente) a supervisar.
- Tener suficiente antigüedad para infundir respeto y autoridad en lo que se refiere a sus conocimientos y experiencia.
 - Experiencia mínima de un año en la función/categoría.
- Ser capaz de transmitir conocimientos y habilidades a otros (habilidades pedagógicas).
- Comprender los motivos por los que la formación y la supervisión son importantes.
- Tener buenas habilidades interpersonales.
- Comprometerse a aplicar tanto la letra como el espíritu de la normativa.
- Disponibilidad real de tiempo durante toda la realización del TBS.

Sería recomendable, además, que los evaluadores cumplieran algunos requisitos adicionales:

- Formación teórico-práctica adicional a la mínima establecida en la *Orden ECC/566/2015*, en cuanto a su extensión y duración (p. Ej. distintas especies, métodos de refinamiento, alternativos, etc.), cumpliendo con los requisitos de formación profesional continua para personas con roles específicos dentro del animalario.
- Posición jerárquica en la institución suficiente como para gestionar los recursos materiales (equipamiento, materiales, fungibles, etc.) y organizativos (accesos, programación y asignación de tareas, modificación de horarios, etc.) necesarios para llevar a cabo la evaluación.
- Es recomendable la selección de aquellos evaluadores que, siendo idóneos en base a los aspectos enumerados más arriba, posean además cierta experiencia en la impartición de cursos, clases prácticas, seminarios, etc. Las habilidades pedagógicas son importantes.

En cualquier caso, dentro de estas pautas, se debe dejar a criterio del RAE o el RISE la designación del supervisor y del evaluador, siempre y cuando se trate de una persona competente (p. Ej. formador de terceros) en las funciones que va a supervisar.

4.2.E Control de Calidad

Con el objetivo de que el SdV sea robusto y se someta a un proceso de mejora continua, es deseable que exista algún tipo de control de calidad del proceso de valoración. El control de calidad debería estar basado en aspectos tales como:

- Evaluaciones retrospectivas.
- Revisiones periódicas (quizás por el OEBA) y aleatorias.
- Encuestas y *feed-back* de evaluadores, supervisores y alumnos.
- Comparativas entre instituciones.

4.2.F Propuesta de Tareas y Habilidades a Evaluar

Como se ha señalado en el apartado 4.2.B, se debe confeccionar un PdT en función de las características del puesto o del perfil del candidato que incluya las tareas y/o habilidades que se consideren oportunas en función de las circunstancias.

Con el fin de organizar de la forma más eficiente posible el aprendizaje y la evaluación del desempeño se proponen, **como ejemplo**, un listado de tareas/habilidades y la duración estimada de aprendizaje tanto para la función [a] en la Tabla 1, como para la

función [b] en la Tabla 2. Las tareas/habilidades se han agrupado en bloques. Obviamente, un PdT no tiene por qué incluir todas y cada una de las entradas de las listas que se ofrecen a modo de ejemplo, pero sí es conveniente que contenga ítems de todos los bloques hasta completar, al menos, la duración recomendada.

La función [c] es la más compleja de todas y debe componerse de tareas/habilidades de 3 tipos:

a) Procedimientos menores:

i) Tareas/habilidades de tipo 1: Muchas de las tareas recogidas en la Tabla 1 para la funciones [a] y [b] deben ser conocidas también por el personal de la función [c], especialmente si acceden al animalario. Por ello, en muchos casos es necesario seleccionar tareas y habilidades comunes a las funciones [a] y [b]. Incluir tareas de este nivel es muy recomendable.

ii) Tareas/habilidades de tipo 2: Los experimentadores deben obtener conocimientos teórico-prácticos sobre bienestar animal por motivos obvios. En muchos casos, además, también realizan la gestión de sus colonias. Estas tareas/habilidades están descritas en la Tabla 3. Incluir tareas sobre bienestar animal, al menos, es imprescindible.

b) Procedimientos complejos:

i) Tareas/habilidades de tipo 3: Son las menos definibles a priori porque dependen del procedimiento en sí. Por tanto, hemos elaborado un listado de tareas/habilidades con distinto grado de concreción con la única intención de dar ideas sobre cómo plasmarlo en un plan de trabajo. El listado de la Tabla 4 debe interpretarse como una guía para desarrollar un listado de tareas/habilidades específicas a los procedimientos autorizados. Es obligatorio incluir tareas y habilidades específicas a estos procedimientos, pero no tienen por qué ser las que se recogen en la Tabla 4.

Tabla 1.- Ejemplo de listado de tareas y habilidades para un PdT (función [a]).

Tarea o habilidad		Supervisor ³	Duración ¹ (horas)
Accesos e instalaciones. Generalidades.			
T1 ²	Control de accesos y seguridad.	Supervisor ³	0,25
T2	Autorización de acceso y personal autorizado.	Supervisor	0,25
T3	Requisitos y condiciones de acceso a las distintas zonas.	Supervisor	0,50
T4	Actuación en caso de emergencia.	Supervisor	0,25
Identificación de zonas, sus riesgos y restricciones.			
T5	Rotaciones, tráfico e incompatibilidades entre zonas.	Supervisor	0,50
T6	Trabajo en espacios confinados y/o restringidos (puertas enclavadas, duchas de aire, SAS, esclusas, etc.).	Supervisor	0,50
Acceso (personas, materiales, animales y equipos) a las distintas zonas.			
T7	Protocolos de acceso a cuarentenas, convencional, barreras, seguridad biológica, zonas experimentales, áreas especiales (quirófanos, irradiación, etc.).	Supervisor	0,50
Seguridad e higiene (del personal).			
T8	Normas de higiene en el animalario.	Supervisor	0,50
T9	Indumentaria de trabajo.	Supervisor	0,25
H1 ⁴	Selección y uso de EPIs.	Supervisor	0,25
Instalaciones y equipos para el alojamiento de animales.			
T10	Acceso y trabajo en cuarentenas.	Supervisor	0,25
T11	Acceso y trabajo en zonas convencionales.	Supervisor	0,25
T12	Acceso y trabajo en zonas bajo barrera (contención y exclusión).	Supervisor	0,25
T13	Jaulas, racks, boxes, corrales, etc.	Supervisor	0,25
Instalaciones y equipos para el manejo de animales.			
T14	Transporte y traslado de animales.	Supervisor	0,25
T15	Cabinas de flujo laminar.	Supervisor	0,25
T16	Equipos de aislamiento y sujeción.	Supervisor	0,25
Almacenes y gestión de existencias.			
T17	Control de existencias.	Supervisor	0,25
T18	Pedidos de suministros y material.	Supervisor	0,25
T19	Recepción y distribución de mercancías.	Supervisor	0,25
T20	Almacenaje de productos con requerimientos especiales.	Supervisor	0,25
Control del estado de las instalaciones y equipos.			
T21	Revisiones y controles diarios, semanales, mensuales, etc.	Supervisor	0,25

¹ Duración estimada² [T] indica que se trata del aprendizaje de una tarea a desarrollar.³ Iniciales del supervisor encargado de supervisar y evaluar la tarea o habilidad⁴ [H] indica que se trata de la adquisición de una habilidad.

Tarea o habilidad		Supervisor	Duración (horas)
T22	Mantenimiento de registros.	Supervisor	0,25
T23	Actuación en caso de avería o mal funcionamiento.	Supervisor	0,25
Requerimientos de mantenimiento, verificación y calibración de equipos.			
T24	Mantenimiento preventivo de equipos e instalaciones.	Supervisor	0,25
Limpieza y esterilización.			
T25	Utilización de autoclave.	Supervisor	1,00
T26	Utilización de un SAS.	Supervisor	0,50
T27	Preparación y manejo de material estéril.	Supervisor	1,00
T28	Distribución de material estéril.	Supervisor	0,25
T29	Tratamiento de material considerado sucio.	Supervisor	0,25
Control de plagas.			
T30	Barreras físicas para el control de plagas.	Supervisor	0,25
T31	Tratamientos anti-plagas.	Supervisor	0,25
Gestión de residuos.			
T32	Clasificación y retirada de residuos.	Supervisor	1,00
T33	Residuos peligrosos.	Supervisor	1,00
Revisión del estado de los animales.			
T34	Revisiones periódicas.	Supervisor	1,00
T35	Animales sueltos.	Supervisor	1,00
T36	Comunicación de incidencias.	Supervisor	1,00
T37	Identificación de animales enfermos.	Supervisor	1,00
Alojamiento de los animales.			
T38	Condiciones de alojamiento.	Supervisor	1,00
T39	Identificación y gestión de condiciones de hacinamiento.	Supervisor	0,50
T40	Cambio de jaulas y bebida.	Supervisor	0,50
T41	Alimentación de animales.	Supervisor	0,50
T42	Manejo y sujeción de animales.	Supervisor	2,00
T43	Revisión y control de parámetros de alojamiento y medioambientales.	Supervisor	1,00
Identificación y clasificación de animales.			
T44	Métodos de identificación (jaulas, animales, etc.).	Supervisor	1,00
T45	Marcaje de animales.	Supervisor	0,50
T46	Sexado de animales.	Supervisor	1,00
Documentación y mantenimiento de registros.			
T47	Elaboración, seguimiento y revisión de PNTs.	Supervisor	1,00
T48	Mantenimiento de registros.	Supervisor	1,00

Tabla 2.- Ejemplo de listado de tareas y habilidades para un PdT (función [b]).

Tarea o habilidad		Duración (horas)
Métodos de eutanasia.		
T1	Métodos de eutanasia aprobados para la instalación.	Supervisor 1,00
T2	Selección del método apropiado en función de la especie animal.	Supervisor 1,00
T3	Selección del método apropiado en función del tamaño, edad, etc.	Supervisor 1,00
T4	Problemas derivados de una inadecuada selección del método.	Supervisor 0,50
Manejo de los animales.		
T5	Identificación y selección de animales.	Supervisor 0,50
T6	Condiciones de alojamiento y manipulación.	Supervisor 0,50
Aplicación de los métodos de eutanasia.		
T7	Aplicación de eutanasia por inhalación de CO ₂ .	Supervisor 1,00
T8	Uso seguro de equipos con gases a presión.	Supervisor 1,00
T9	Aplicación de eutanasia por dislocación cervical.	Supervisor 2,00
T10	Aplicación de eutanasia por sobredosis de anestésico.	Supervisor 1,50
T11	Aplicación de eutanasia por decapitación	Supervisor 1,50
T12	Confirmación de la muerte del animal.	Supervisor 1,00
H1	Cálculos básicos de tiempos y dosis.	Supervisor 1,00
Eliminación de cadáveres.		
T13	Almacenaje y retirada de cadáveres.	Supervisor 0,50
T14	Documentación y registros.	Supervisor 1,00

Tabla 3.- Ejemplo de listado de tareas y habilidades tipo 2 para un PdT (función [c]).

Tarea o habilidad		Duración (horas)
Bienestar animal.		
T1	Detección de signos de dolor, sufrimiento y angustia.	Supervisor 2,00
T2	Cumplimentación del protocolo de supervisión aprobado en el proyecto.	Supervisor 2,00
T3	Aplicación de medidas correctoras aprobadas en el proyecto.	Supervisor 2,00
T4	Aplicación de criterios de punto final aprobados en el proyecto.	Supervisor 2,00
T5	Monitorización condiciones ambientales.	Supervisor 2,00
T6	Inspección de los elementos de mantenimiento del animal: lecho, comida, agua, enriquecimiento ambiental.	Supervisor 2,00
Gestión de colonias.		
T1	Selección de los animales parentales por sus características genotípicas.	Supervisor 2,00
T2	Programación de una agenda de cruce.	Supervisor 2,00
T3	Preparación de las condiciones de jaulas y su identificación.	Supervisor 2,00

Tarea o habilidad		Duración (horas)
T4	Detección de la cubrición mediante tapón mucoso y registro.	Supervisor 2,00
T5	Confirmación de la gestación y registro.	Supervisor 2,00
T6	Confirmación del parto y registro.	Supervisor 2,00
T7	Realización de destetes.	Supervisor 2,00
H1	Sexado de animales y selección por fenotipos, marcaje y/o toma de muestras para genotipado.	Supervisor 4,00

Tabla 4.- Ejemplo de listado de tareas y habilidades tipo 3 para un PdT (función [c]).

Tarea o habilidad		Duración (horas)
Administración de sustancias.		
H1	Administración intraperitoneal.	Supervisor 2,00
H2	Administración intravenosa.	Supervisor 2,00
H3	Administración intramuscular.	Supervisor 2,00
H4	Administración subcutánea.	Supervisor 2,00
H5	Administración oral.	Supervisor 2,00
H6	Administración intradérmica.	Supervisor 2,00
H7	Otras administraciones (definir).	Supervisor 2,00
T1	Selección del método apropiado en función de la especie animal.	Supervisor 2,00
T2	Selección del método apropiado en función del tamaño, edad, etc.	Supervisor 2,00
T3	Problemas derivados de una inadecuada selección del método.	Supervisor 2,00
T4	Métodos de administración aprobados en el proyecto.	Supervisor 2,00
H8	Cálculos básicos de volúmenes, frecuencia y selección correcta de agujas.	Supervisor 4,00
Toma de muestras.		
H1	Punción cardiaca terminal bajo anestesia.	Supervisor 2,00
H2	Extracción venosa.	Supervisor 2,00
H3	Extracción arterial.	Supervisor 2,00
T1	Selección del método apropiado en función de la especie animal.	Supervisor 2,00
T2	Selección del método apropiado en función del tamaño, edad, etc.	Supervisor 2,00
T3	Problemas derivados de una inadecuada selección del método.	Supervisor 2,00
T4	Métodos de extracción aprobados en el proyecto.	Supervisor 2,00
H4	Cálculos básicos de volúmenes, frecuencia y selección correcta de agujas.	Supervisor 4,00
Anestesia y analgesia.		
T1	Diferenciación entre sedación, anestesia local, neuroleptoanalgesia y anestesia general.	Supervisor 2,00
T2	Preparación combinaciones de anestesia balanceada.	Supervisor 2,00
T3	Factores a considerar en la evaluación previa a la anestesia.	Supervisor 2,00

Tarea o habilidad		Duración (horas)
T4	Minimización del estrés previo a la anestesia.	Supervisor 2,00
T5	Preparación, manipulación y mantenimiento del equipo anestésico.	Supervisor 2,00
T6	Preparación de protocolos de analgesia preventiva.	Supervisor 2,00
T7	Evaluación niveles y planos de anestesia.	Supervisor 2,00
T8	Administración anestesia inyectable.	Supervisor 2,00
T9	Administración anestesia inhalatoria.	Supervisor 2,00
T10	Monitorización anestésica.	Supervisor 2,00
T11	Cumplimentación hoja de registro de anestesia.	Supervisor 2,00
T12	Métodos para optimizar la recuperación de la anestesia.	Supervisor 2,00
T13	Uso, almacenamiento y eliminación segura de anestésicos y analgésicos.	Supervisor 2,00
T14	Uso ventilación mecánica.	Supervisor 2,00
T15	Definición de un programa de manejo del dolor postoperatorio.	Supervisor 2,00
T16	Actuación frente a accidentes anestésicos y problemas postquirúrgicos.	Supervisor 2,00
T17	Protocolo anestésico aprobado en el proyecto.	Supervisor 2,00
H1	Definición de un protocolo anestésico y analgésico adecuado al procedimiento quirúrgico: cálculo dosis, selección vía, estimación duración anestesia...	Supervisor 4,00
Cirugía.		
T1	Evaluación preoperatoria del animal.	Supervisor 2,00
T2	Principios de la cirugía exitosa.	Supervisor 2,00
T3	Preparación del material y campo quirúrgico. Técnica aséptica.	Supervisor 2,00
T4	Diferenciación del material quirúrgico, tipos de sutura, agujas...	Supervisor 2,00
T5	Patrones de sutura.	Supervisor 2,00
T6	Planificación de la intervención quirúrgica.	Supervisor 2,00
T7	Planificación de la monitorización postoperatoria.	Supervisor 2,00
T8	Protocolo quirúrgico aprobado en el proyecto.	Supervisor 2,00
H1	Realización de una técnica quirúrgica concreta con éxito.	Supervisor 4,00
Cirugía estereotáxica.		
T1	Aplicación de preanestesia del animal.	Supervisor 2,00
T2	Colocación del animal en el sistema estereotáxico.	Supervisor 2,00
T3	Aplicación de medidas de desinfección, asepsia de campo, mantenimiento vital y cuidados bajo cirugía.	Supervisor 2,00
T4	Aplicación del tratamiento y cuidados postoperatorios.	Supervisor 2,00
H1	Realización de la cirugía; introducción de la sonda o aguja en los parámetros cerebrales requeridos.	Supervisor 4,00
H2	Sutura.	Supervisor 4,00
Conducta: Pruebas de escape		
T1	Aplicación de técnicas de habituación al manipulador como periodos de acercamiento progresivo, tocar en la jaula, coger y soltar, manipular y transportar.	Supervisor 2,00

Tarea o habilidad		Duración (horas)
T2	Preparación de la sala: cámaras, iluminación, señales extralaberínticas, temperatura de agua, plataforma de escape, ruido, sistemas de registro.	Supervisor 2,00
T3	Habitación de los animales a la sala.	Supervisor 2,00
T4	Introducción del animal en la piscina.	Supervisor 2,00
T5	Registro y cronometrado de la prueba.	Supervisor 2,00
T6	Aprendizaje del escape y extracción del animal.	Supervisor 2,00
T7	Acondicionamiento del animal tras la prueba, aplicación de presecado y calor para evitar la hipotermia.	Supervisor 2,00

4.3 Cumplimentación de los Registros

Una vez autorizado el PdT por el RAE o el RISE, a propuesta del supervisor, los supervisores deberán cumplimentar progresivamente un formulario de registro en el que se incluya, al menos: el trabajo realizado, su duración y la lista de tareas y habilidades cuya superación se ha comprobado.

En el Anexo II se puede consultar el modelo de formulario de registro de tareas y habilidades que aparece en la documento de trabajo de la Comisión Europea.

4.4 Superación del TBS

Tras la aplicación del SdV y una vez concluido el Plan de Trabajo satisfactoriamente, los supervisores/evaluadores emitirán un informe respaldando la competencia del alumno en las tareas y/o habilidades listadas en el Plan de Trabajo. Este informe debe adjuntarse a una copia de los formularios de registro mencionados en el apartado anterior.

El Plan de Trabajo se habrá completado satisfactoriamente si, y sólo si, para cada evaluación individual de cada tarea o actividad se ha conseguido el nivel "medio" (valor numérico 3).

El alumno es responsable de enviar el informe y los registros adjuntos al RAE, o persona en quien delegue, para que emita el **Certificado de Superación del TBS**.

Este Certificado de Superación incluirá, al menos:

- Función/es.
- Número de horas.
- Identificación del supervisor/es y evaluador/es.
- Especies con las que ha trabajado.
- En el marco de qué proyecto/s autorizado/s se ha trabajado (obligatorio para la función [c]).

En el Anexo III se adjunta un ejemplo de Certificado de Superación del TBS.

Es importante destacar que adquirir la competencia en una tarea o habilidad no capacita para ser formador de terceros. Los requisitos para ser formador de terceros están descritos en el apartado 4.2.D.2 Competencia del Supervisor/Evaluador.

4.5 Solicitud de reconocimiento de la capacitación

Una vez superado el TBS el alumno debe solicitar el reconocimiento de la capacitación, que es un requisito indispensable para realizar las funciones correspondientes de manera autónoma. La capacitación de las funciones [a], [b] y [c] se obtendrá mediante el cumplimiento de los siguientes requisitos, con las peculiaridades que para cada función se concretan en la sección 1.ª del capítulo II de la ECC/566/2015:

- Superar cursos de formación teórico-prácticos, dirigidos a la adquisición de los resultados de aprendizaje de los módulos correspondientes a cada una de las funciones a las que se refiere el artículo 3.2. de la ECC/566/2015.
- Realizar adicionalmente un período de trabajo bajo supervisión.

Es responsabilidad del alumno realizar los trámites de solicitud de reconocimiento de la capacitación siguiendo el procedimiento establecido por el órgano competente que corresponda. Existen varias posibilidades de solicitud de este reconocimiento:

- En la comunidad autónoma en la que se ha realizado el curso (o donde éste ha sido reconocido -cursos online-) y en la que se ha realizado el TBS.
- En la comunidad autónoma en la que se haya realizado el curso o el TBS, si son distintas.

- En la comunidad autónoma donde se acredite un contrato u oferta de trabajo.
- En la comunidad autónoma en la que el solicitante tenga su domicilio.

4.6 Excepciones

4.6.A Solicitud de inicio de realización del TBS antes de finalizar los cursos formativos

Esta posibilidad la recoge el artículo 11.2, párrafo 2, de la ECC/566/2015, con las siguientes condiciones:

- El periodo provisional no podrá tener una duración superior a 6 meses.
- El alumno estará siempre bajo supervisión responsable.
- En el caso de la función [c], la severidad del procedimiento será «leve» o «sin recuperación».
- Previa autorización de la autoridad competente.

Para ello será necesario remitir la solicitud del interesado dirigida al órgano competente al que esté adscrito el establecimiento en el que se desarrollará el TBS.

Esta solicitud deberá justificar las razones que la motivan y por las que no es posible esperar a la finalización del curso de formación para iniciar el TBS. Por ejemplo, perentoriedad de los procedimientos dentro de un proyecto, necesidad de iniciar los trabajos de tesis, puesta en marcha de un nuevo centro, contratación por el animalario, siendo necesario iniciar la prestación de servicios, etc.

Es preciso que la solicitud acompañe:

- Escrito del responsable administrativo del establecimiento en que se va a realizar el TBS avalando la solicitud. En este escrito se identificará el trabajo a realizar, se indicará la persona que va a realizar la supervisión y, en el caso de la función [c], incluirá una declaración del RAE comprometiéndose a que las actuaciones sobre los animales sean un procedimiento clasificado como «leve» o «sin recuperación». También podría considerarse un escrito por parte del responsable *in situ*, dado que esa normativa le atribuye asegurar del cumplimiento de la normativa, incluida la formación del personal.
- Certificado de la entidad formadora que acredite que el interesado ha realizado al menos el módulo de "cuidado, salud y manejo de los animales" y el módulo de "reconocimiento del dolor, el sufrimiento y la angustia" de los módulos troncales.

Sólo en casos muy excepcionales y debidamente justificados, el solicitante podría presentar la matrícula o inscripción en un curso reconocido o el compromiso de inscribirse en el primero que se convoque a nivel nacional.

- *Curriculum vitae* del solicitante

4.7.B Solicitud de autorización del TBS fuera de un establecimiento cuando intervengan animales silvestres

Esta excepción la posibilita el artículo 11.3 de la ECC/566/2015 y se requiere solicitud presentada por la persona que va a realizar el TBS, con el visto bueno del responsable administrativo del establecimiento y el responsable del proyecto implicado, que se responsabiliza de la correcta ejecución del TBS. Deberá identificarse el proyecto, que deberá haber sido previamente aprobado.

Cabe la posibilidad de que la solicitud la haga el centro, para uno o más proyectos y para una o más personas. En todo caso se debe adjuntar el visto bueno de los implicados y la identificación de los proyectos aprobados.

BIBLIOGRAFÍA

1. España. Orden ECC/566/2015, de 20 de marzo, por la que se establecen los requisitos de capacitación que debe cumplir el personal que maneje animales utilizados, criados o suministrados con fines de experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. Boletín Oficial del Estado, 1 de abril de 2015, núm. 78, pp. 27940-27973. Disponible en: https://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-2015-3564
2. España. Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. Boletín Oficial del Estado, 8 de febrero de 2013, núm. 34, pp. 11370-11421. Disponible en: http://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-2013-1337
3. Comisión Europea. Documento de trabajo sobre el desarrollo de un marco común de educación y formación para cumplir con los requisitos de la Directiva 2010/63/UE. Bruselas, 19-20 de febrero de 2014. Disponible en: http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/guidance/education_training/es.pdf
4. LASA 2016 *Guiding Principles for Supervision and Assessment of Competence as required under EU and UK legislation*, 2nd Edition. A report by the LASA Education, Training and Ethics Section. (M. Jennings and M. Berdoy, Eds.). Disponible en: http://www.lasa.co.uk/wp-content/uploads/2016/09/LASA_supervision_and_competence_2016.pdf

5. Unión Europea. *Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos*. Diario Oficial de la Unión Europea L276, 20 de octubre de 2010, pp.33-79. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063&from=EN>

6. Miller G.E. *The assessment of clinical skills/competence/performance*. Acad. Med. 1990, 65(9):S63-7.

Anexo I

Solicitud de reconocimiento de un supervisor de un TBS

Nombre del Supervisor/a (Pueden ser varios)	
Nombre del Alumno/a	
Funciones que desea supervisar	<input type="checkbox"/> A. Cuidador <input type="checkbox"/> B. Eutanasia <input type="checkbox"/> C. Realización procedimientos
Título y código de autorización del proyecto/s en el que se encuadra el TBS (obligatorio para la función c)	
Especie/s con las que va a realizar el TBS	

Cumplimente según corresponda:

1. Cuenta con la **capacitación para la función que supervisa**: SI NO

2. Cuenta con una experiencia mínima de un año en el desempeño autónomo de la función que desarrolla: SI NO

3. Se compromete a aplicar tanto la letra como el espíritu de la **Orden ECC/566/2015** y el **Real Decreto 53/2013**: SI NO

4. Se compromete a **supervisar presencialmente*** al alumno siempre que realice un procedimiento que pueda causarle al animal estrés, malestar, dolor o angustia, al menos, hasta que el alumno adquiera la destreza suficiente para realizar dicho procedimiento sin esa supervisión presencial: SI NO

* Si el supervisor no puede comprometerse a acudir al animalario hasta que el alumno adquiera las destrezas necesarias es necesario designar a otro supervisor o establecer una doble supervisión con otra persona que sí pueda supervisar presencialmente al alumno.

5. **Una vez finalizado el trabajo bajo supervisión**, se compromete a enviar un informe, en el que se especifiquen al menos: el trabajo realizado, su duración, las especies con las que ha trabajado, el código de autorización de los proyectos en los que ha realizado este TBS y la lista de tareas y habilidades cuya superación se ha comprobado, indicando si el informe es favorable o desfavorable: SI NO

En , a de de 20

Fdo.:

Anexo II

Formulario de registro de tareas y habilidades del TBS

Procedimiento	Especie	Alumno bajo supervisión				Competencia adquirida			Estado de formador adquirido		
		Fecha	Nivel de supervisión	Alumno (Iniciales)	Formador (Iniciales)	Fecha	Alumno (Iniciales)	Formador (Iniciales)	Fecha	Alumno (Iniciales)	Formador (Iniciales)

4: El supervisor está presente cuando se realiza el procedimiento, ofrece una supervisión directa y asesora.

3: El supervisor sabe cuándo se van a realizar los procedimientos y puede intervenir rápidamente si es necesario (es decir, se encuentra cerca del procedimiento).

2: El supervisor sabe cuándo se van a realizar los procedimientos y puede acudir y dar consejos si es necesario (es decir, se encuentra cerca del establecimiento).

1: El supervisor sabe cuándo se van a realizar los procedimientos y está disponible para hablar y dar consejos si es necesario (es decir, por teléfono).

0: No es necesaria la supervisión.

Nº de Formulario:

Fecha de publicación:

Anexo III

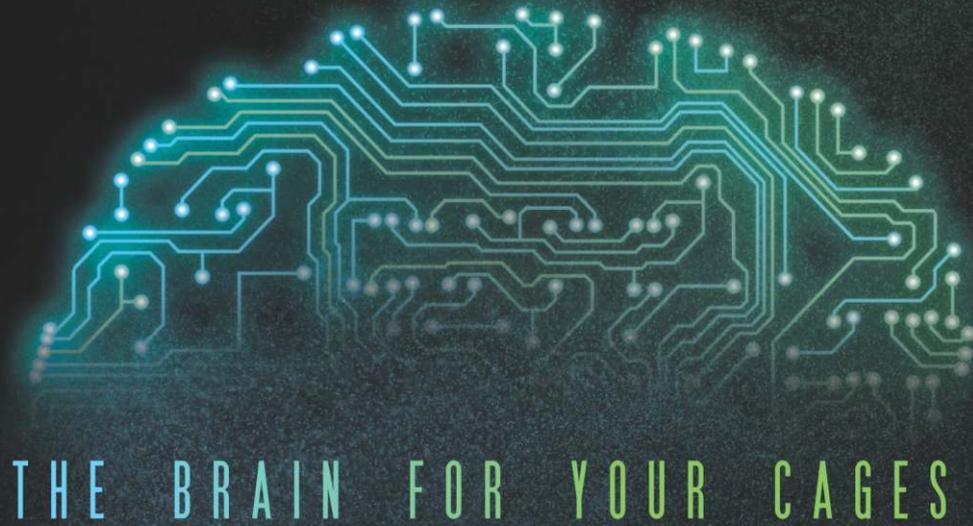
Certificado de superación del trabajo bajo supervisión

Alumno del trabajo bajo supervisión (TBS)	
Supervisor/supervisores	
Responsable administrativo	
Título del proyecto en el que se lleva a cabo el TBS	
Código de autorización del proyecto	
Función/Funciones	
Número de horas de cada función	
Especie/especies	
Evaluación	

El alumno ha superado favorablemente el periodo de trabajo bajo supervisión para las especies y funciones arriba indicadas.

En , a de de 20

Fdo.:



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

Bienestar en animales de experimentación: Conejos

David Ayensa Pérez

Veterinario y Director Granja San Bernardo

¿QUÉ ES BIENESTAR O QUÉ ENTENDEMOS POR BIENESTAR?

Todo el mundo habla de bienestar cuando nos referimos al mantenimiento de animales y en concreto a animales con fines científicos, pero nos enfrentamos a un término, "bienestar", tremendamente confuso, interpretable desde diferentes puntos de vista y referido a muy distintos aspectos. Por lo que, para poder medir el nivel de bienestar en los animales y poder aplicar las medidas oportunas para mejorarlo, antes debemos tener claro de qué estamos hablando.

Etimológicamente, bienestar proviene de bien y estar, conjunto de cosas necesarias para vivir bien. El bienestar del individuo es su estado en relación a sus intentos para enfrentarse a su medio ambiente (Broom 1986).

Podría decirse que el bienestar durante largos periodos de tiempo, podría llamarse "calidad de vida" (Broom 2007). Sentimientos como dolor, miedo, placer en la alimentación, placer sexual... son componentes de mecanismos para enfrentarse al ambiente.

Teniendo en cuenta estos aspectos, bien podríamos afirmar que el bienestar puede variar de muy bueno a muy pobre.

El concepto de las necesidades es clave para entender el bienestar animal, y las necesidades vendrán determinadas por la especie, la edad, el sexo...

Pero antes de entrar en materia estableceremos la base sobre la que cimentar nuestros argumentos, "la salud", que será el primer indicador de bienestar.

A continuación, repasaremos algunos aspectos que tendrán especial importancia a la hora de poder evaluar el bienestar

de los animales, o de establecer las necesidades mediante las que podemos garantizar o mejorar el bienestar del individuo o la colonia de animales con los que estamos trabajando.

¿QUÉ NOS DICE LA LEGISLACIÓN AL RESPECTO DE BIENESTAR ANIMAL?

Los animales utilizados con fines experimentales deberán recibir cuidados y un tratamiento adecuado. También deberán alojarse en jaulas lo suficientemente grandes y en un entorno adaptado a cada especie de conformidad con las normas que figuran en el anexo III de la Directiva 2010/63/UE.

Una persona competente debe realizar al menos una vez al día un chequeo de los animales. Dichos chequeos deben garantizar que todo animal enfermo o herido sea detectado y reciba los cuidados necesarios.

Los métodos de sacrificio deberán limitar el dolor, el sufrimiento y la angustia de los animales. Tan solo las personas debidamente capacitadas podrán llevar a cabo el sacrificio de los animales en el establecimiento de un criador, suministrador o usuario, según un método previsto en el anexo IV de la Directiva.

En la Directiva también encontramos los Requisitos relativos a los establecimientos y al alojamiento y al cuidado de los animales.

VALORES DE BIENESTAR

Para medir el bienestar buscaremos una serie de indicadores zootécnicos, patológicos y de comportamiento, cuyo desvío de los patrones normales nos hagan suponer un bajo bienestar o una mejora en el bienestar.

Indicadores Zootécnicos

- Densidad de animales:
 - Ciclo reproductivo.
 - Edad.
 - Sexo.
- Medio ambientales:
 - Temperatura.
 - Ventilación: renovación de aire y velocidad del aire.
 - Luz.
 - Humedad relativa.
 - Pureza del aire: amoníaco y CO₂.
- Manejo en producción: Interacción con los operarios, formación, destreza, cambios en personal, destetes, mezcla de animales.
- Alimentación: cantidad *ad libitum*, granulación, formulación (proteína, fibra, complejos vitamínicos-minerales), cambios en alimentación.

Indicadores Patológicos

- Presencia de determinados signos clínicos: problemas digestivos, diarrea, problemas respiratorios, estornudos.
- Incidencia de enfermedades infecciosas.
- Incidencia de enfermedades parasitarias.
- Incidencia de intoxicaciones.
- Incidencia de deficiencias alimentarias.
- Incidencia de anomalías genéticas.
- Mortalidad de individuos: en adultos, en recién nacidos, predestete, durante el cebo o engorde.
- Lesiones: patas, mamas, peleas.
- Reproductivos: fertilidad, prolificidad, tamaño de camada, lactancia, mortalidad embrionaria y abortos.
- Productivos: velocidad crecimiento, índice de conversión.

Indicadores de Comportamientos

- Comportamiento individual.
- Comportamiento social.
- Interacción con operarios.
- Facilidad de movimientos.
- Miedo (no confundir con alerta).
- Estereotipias.
- Agresividad.
- Coprofagia.

ELECCIÓN DEL ANIMAL

El conejo New Zealand White (ver Figura 1) es el animal de elección, ya que está adaptado. El conejo silvestre, no está adaptado a un animalario: no puede mantenerse enjaulado, sufre un nivel de estrés importante y el manejo resulta muy complicado, por lo que no podemos plantear las mismas necesidades para garantizar el bienestar del animal.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Conejos New Zealand White.

INDICADORES

Parámetros Ambientales

A continuación, haremos un breve repaso a los requisitos medioambientales en los establecimientos (ver Tabla 1).

Renovación de aire

El objeto del sistema de ventilación es suministrar aire fresco y mantener bajo el nivel de olores, gases nocivos, amoníaco, polvo y agentes infecciosos de cualquier tipo. El dispositivo que se monte debe ser capaz de realizar 12 renovaciones por hora. El aire de cada sala se renovará a intervalos frecuentes, por ejemplo un régimen de 10 renovaciones de aire por hora es adecuado aunque dependerá de la densidad de ocupación y del estado de las fosas (si las hay) o zona de almacenamiento de las heces, por lo que también podrían ser suficientes 6-8 renovaciones por hora o menos.

Bienestar animal

La renovación permite la expulsión de los gases nocivos. La admisión de aire fresco no debería sobrepasar los 4 m³/hora por kilo de peso vivo.

Como observaciones generales, se puede proyectar la ventilación evitando corrientes de aire; por ejemplo, unos muros/obstáculos pueden prevenir que el aire dé directamente sobre los animales. También se debe garantizar una baja velocidad del aire para evitar problemas respiratorios, a nivel 0,1-0,2 m/s.

Temperatura

Mantener una temperatura estable, impidiendo que ésta sobrepase el límite establecido de 25 °C.

Humedad relativa

Asegurar un % de humedad relativa constante a lo largo de todo el año (60%), procurando que la humedad no sea inferior al 50% o superior a 80%.

Ambiente

El nivel de NH₃ en ambiente a 8-10 ppm ya es detectable por el olfato, por lo que podemos establecer un primer nivel de alerta en 10 ppm que requerirá tomar acciones, como pueden ser la limpieza y eliminación de las heces si se acumulan o cambiar la ventilación.

Los niveles máximos admisibles son 12 ppm de NH₃ en ambiente con exposiciones largas de tiempo y 20 ppm en ambientes con exposiciones cortas de tiempo.

Exposiciones prolongadas de tiempo con niveles altos de amoníaco gas pueden provocar irritación de las mucosas y problemas respiratorios. Algunos estudios han demostrado la capacidad mutagénica del amoníaco en *Drosophila melanogaster* y en *E. coli*, por lo que se deduce que mantener niveles bajos de amoníaco puede ayudar a mantener la flora microbiana controlada.

Ruidos

Las instalaciones deben estar aisladas de focos fuertes de frecuencias audibles, con el fin de evitar trastornos en la conducta y la fisiología de los animales.

Los ruidos súbitos pueden provocar cambios importantes en las funciones orgánicas como estrés, por lo que el personal debe estar perfectamente informado de cómo tiene que realizar sus tareas diarias: cierre de puertas, golpeo de carros, manejo de objetos contundentes, no arrastrar sacos o calzas por el suelo, hablar en voz adecuada y siempre guardando el mismo tono... Hay que prestar especial atención al personal nuevo y limitar el acceso de personal innecesario.

Iluminación

El periodo de máxima iluminación es de 16 horas de luz, y se mantiene para favorecer la reproducción en las salas de reproductores. En las salas de gazapos o mantenimiento de animales, los fotoperiodos son de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Por otro lado, una intensidad lumínica baja favorece un estado de tranquilidad en los animales y evita situaciones de estrés.

Tabla 1.- Requisitos medioambientales en conejo.

DATOS MEDIOAMBIENTALES		
	Límites	Objetivo
T ^a	15-25 °C	18-22 °C
H ^a	50-80%	65-70%
NH ₃	< 8 ppm	< 3 ppm
Lux	Reproducción 30-40 lux 16 h Mantenimiento 30-40 lux 12 h	
db	< 90 Ruido constante, baja frecuencia. Ausencia de picos	40-60 ruido constante

Alimentación y bebida

Los animales disponen de alimentación y bebida *ad libitum*. El agua tiene que ser limpia, fresca y libre de contaminación microbiológica. El pienso es granulado, de 8-15 mm de largo y 2-3 mm de diámetro. El % máximo de finos no supera el 1%. El pienso, nutricionalmente, debe estar equilibrado y aunque el conejo admite otros valores, los que se detallan en la Tabla 2 pueden ser una referencia.

Tabla 2.-Componentes analíticos del pienso.

COMPONENTES ANALÍTICOS	
Proteína bruta	16%
Aceite y grasas brutos	3,5%
Fibra bruta	16-17%
Ceniza bruta	8,5%

Los datos reproductivos que se presentan en la Tabla 3 muestran valores normales y su obtención en una colonia de animales no parece indicativo de un bienestar bajo.

Tabla 3.-Datos Reproductivos.

DATOS REPRODUCTIVOS	
Fertilidad	85%
Prolificidad	9
Destetados	9
Bajas	< 1%

La velocidad de crecimiento (ver Figura 2) también es indicativa del grado de bienestar en una colonia de animales.

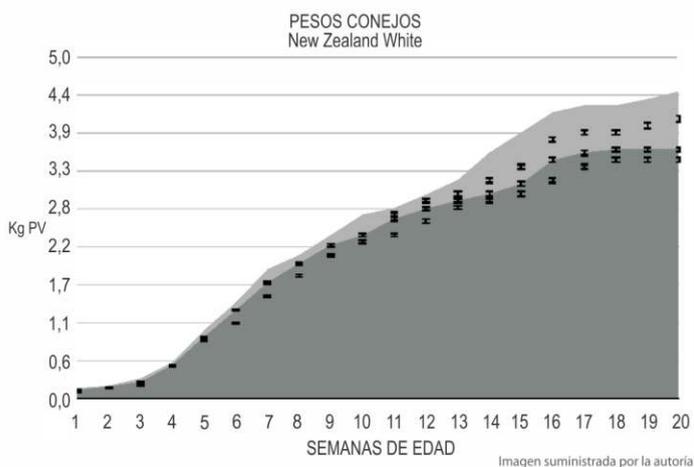


Figura 2.- Velocidad de crecimiento en conejos New Zealand White.

Evaluación del dolor

Las manifestaciones clínicas del dolor en esta especie son características (ver Tabla 4), pero pueden pasar inadvertidas si el dolor es de intensidad leve.

Tabla 4.- Manifestaciones clínicas de dolor.

<p>Signos generales: Actividad reducida, permanece inmóvil o se desplaza lentamente o con esfuerzo. Deshidratación: pelo sin brillo, piel sin elasticidad, ojos hundidos. Depresión, letargia, apatía. Acicalamiento anormal y empeoramiento del pelaje. Cambios en la ingestión de agua y alimento: es reducida, se prolonga en el tiempo o incluso, la comida se cae de la boca. Secreciones oculares, ojos cerrados, palidez (albinos). Posturas anormales: contracciones del abdomen con tensión de la pared muscular, arqueamiento al estar sentado, presión con la cabeza en la pared de la jaula. Autoprotección de la zona dolorosa, frotarse con la esquina de la jaula, tendencia a esconderse (cuando no lo suele hacer) o agresividad súbita inesperada. Pérdida del interés por lo que le rodea. Rechinar de dientes. Vocalización o rechinar de dientes cuando se mueve, defeca, orina durante la manipulación. Patrón respiratorio modificado (incluso cambios sutiles). Incapacidad para descansar o dormir o trastornos del sueño. Expresión facial de ansiedad: pupilas dilatadas, ausencia reflejo palpebral. Salivación incrementada. Aislamiento del grupo.</p>
<p>Dolor leve a moderado: Descarga ocular, fotofobia. Diarrea, depresión, apoyo de la espalda en el fondo de la jaula, acicalamiento excesivo, ingesta reducida de agua y alimento, desinterés, agresividad o vocalización durante la manipulación, rechinar de dientes.</p>
<p>Dolor intenso o crónico: Rechinar de dientes, letargia, deshidratación, pérdida de peso, presencia de heces en la zona anal, pérdida de masa muscular en cuartos traseros, producción reducida de heces nocturnas, falta de respuesta a estímulos.</p>

No obstante, determinados signos son indicativos de la necesidad o la re-evaluación de la analgesia (ver Tabla 5).

Tabla 5.-Signos clínicos que aconsejan analgesia.

<ol style="list-style-type: none"> 1. Apariencia anormal: ansiedad, depresión, inactivo, inquieto. 2. Chillidos o quejidos. 3. Rechinar de dientes. 4. Inmovilidad tónica. 5. Rechaza el agua y/o el alimento. 6. Pérdida de peso.
--

La utilización de escalas numéricas específicas (ver Tabla 6) facilita el seguimiento clínico de procedimientos invasivos y dolorosos.

Tabla 6.- Superior. Escala de valoración del dolor en conejos. **Inferior.** Valoración.

Categoría	Signos	Valoración
Peso corporal	Normal	0
	Pérdida < 10%	1
	Pérdida 10-15%, pero come	2
	Pérdida > 20%, no come	3
Apariencia	Normal	0
	Acicalado pobre	1
	Pelaje descuidado, descarga nasal/ocular	2
	Pelaje mal estado, postura anormal, midriasis	3
Constantes vitales	Normal	0
	Ligeras modificaciones	1
	Cambio de temperatura 1-2 °C, taquicardia/taquipnea ≈ 30%	2
	Cambio de temperatura > 2 °C, taquicardia/taquipnea ≈ 25%, bradipnea o patrón superficial	3
Comportamiento espontáneo en respuesta a estímulo externo (palpación en lugares de punción)	Normal	0
	Respuesta leve	1
	Respuesta anormal moderada	2
	Reacción violenta	3

*Un valor de 3 en una categoría aislada se valora automáticamente con 8-11 puntos.

Valoración	
0-3	Normal
4-7	Falta de confort o dolor
8-11	Sufrimiento, necesidad de medidas paliativas*
12-15	Dolor grave, evaluar refinamiento técnica

TIPO DE INSTALACIONES

Concepto individuo-grupo

El concepto individuo-grupo depende de la edad de los individuos y del sexo.

En general, podemos mantener animales en grupo desde jóvenes hasta las 14-16 semanas de edad. Después de esta edad, puede darse el efecto de dominancia y siempre de uno sobre el resto: riñas, tricofagia que puede requerir separar al dominante.

A partir de las 12-14 semanas de edad, mantener juntos los dos sexos puede generar dificultades.

Estudio, procedimiento o cría, reproducción

Dependiendo del nivel de manejo necesario podemos optar por un tipo de instalación u otra que adaptaremos según las necesidades. Existen importantes diferencias entre:

- **Cría:** que requiere la colocación de nidos y el manejo de un gran número de animales, generalmente. El operario debe estar cómodo para poder manejar el animal de forma que le produzca el menor estrés posible.
- **Estudios que requieran manejo diario:** administraciones, toma de muestras, serologías, temperatura corporal, orina, heces...
- **Estudios que apenas requieran manejo:** cirugías, crónicos, estudios de nutrición/alimentación...

No existe una verdad absoluta sobre el tipo de instalación idónea. Debemos adaptarnos a la instalación que tenemos y en todas las instalaciones puede realizarse enriquecimiento que las mejore y que, por lo tanto, mejore el bienestar. Debe disponerse de locales para alojar por separado a los animales enfermos o heridos.

Número de animales

Dependiendo del número de animales que tenemos que manejar, estableceremos unas necesidades, y con ello la decisión del tipo de instalación.

Enriquecimiento

El enriquecimiento ambiental aporta un conjunto de estímulos que permiten la expresión de las pautas normales de conducta que son propias de la especie.

Dependiendo de la instalación podemos emplear como enriquecimiento ambiental (ver Figura 3): materiales fibrosos, facilitar la visión, socializar o mantenimiento en grupo siempre que el estudio nos lo permita, plataformas, escondites, reposapatatas...



Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Distintos tipos de enriquecimiento ambiental que se pueden facilitar a los conejos.

REPRODUCCIÓN

El comportamiento de la hembra y de los gazapos puede ser otro aspecto indicativo con el que podemos valorar el nivel de

bienestar. Observar la camada los primeros días tras el parto y comprobar que se mantiene el nido conformado (ver Figura 4). El movimiento de los gazapos nos puede indicar si están mamando o no; también podemos cogerlos para comprobar si han mamado, ya que la barriga estará llena de leche (se trasparenta de color blanco). Si su disposición en el nido, agrupada, es placentera, ya que los gazapos deben formar un círculo y estar protegidos por la viruta y el pelo que forma una cama y un parapeto a su alrededor. Por el contrario, cuando se observa que no han mamado o no lo suficiente, no están en posición placentera, sino más desperdigados, los ojos están achinados, entreabiertos y sin brillo.



Imagen suministrada por la autora

Figura 4.- Crías de conejo New Zealand White.

CONCLUSIÓN

Debemos aplicar el sentido común. Pero el sentido común desde el conocimiento científico y ético. No todo vale para todas las ocasiones. Tomemos algunos ejemplos: sala de reproducción y cría, procedimiento de test de fármacos, clínica Veterinaria, estudios de nutrición... nos encontramos ante situaciones muy diferentes en las que lo que en una situación puede favorecer el bienestar, en la otra puede resultar perjudicial; por ejemplo, el uso de plataformas, escondites... se pueden convertir en obstáculos que van a crear estrés durante el manejo, o favorecer patologías afectando a la salud del animal y por lo tanto, el bienestar. No parece muy recomendable utilizar el mismo criterio, por ejemplo de espacio o dimensiones, para todos los casos expuestos anteriormente.

En el camino de la normalización, estandarizar, legislar bajo un solo criterio, no siempre puede resultar beneficioso para el animal, lo que nos obliga a valorar cada situación.

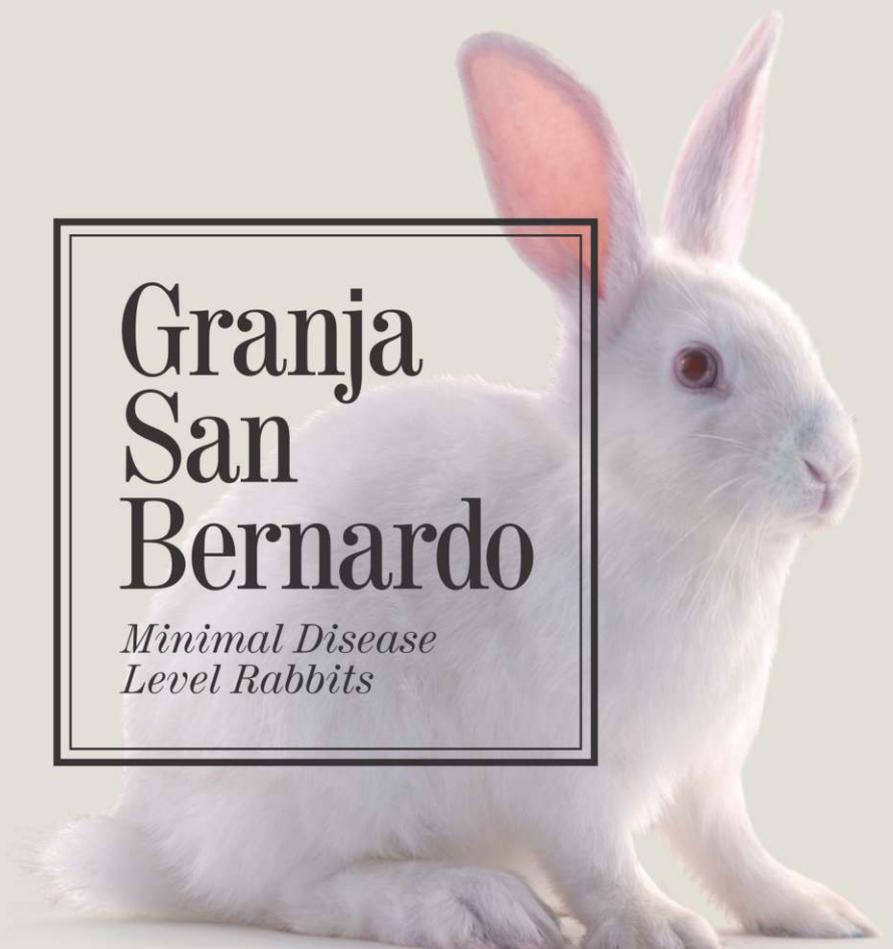
Fernando Savater, en la conferencia *Las contradicciones del progreso*, lo explicaba haciendo referencia al Filósofo Alemán Odo Marquardt, de la siguiente manera: "Las cosas se mueven y que van hacia bien es seguro, vamos introduciendo cambios. Con el progreso los males van disminuyendo, pero van cobrando mayor protagonismo, ahora los percibimos mayores. Están solos. Los males escasos son valorados cada vez como más negativos."

Las condiciones en las que se mantienen o se manejan los animales ahora son infinitamente mejor que hace medio siglo. Pero algo no ha cambiado, el bienestar, que es una condición intrínseca del animal. Intrínsecamente, la sensación de bienestar del animal era la misma antes que ahora y si ahora hemos mejorado la instalación y el manejo garantizando una mejor salud y evitando situaciones de estrés, dolor (tenemos medios para combatirlo) y angustia, es evidente que hemos mejorado y que estamos en el buen camino.

Hoy se usan menos animales entre otras cosas porque el estado sanitario es mejor y por lo tanto, los errores son menores.

A partir de ahí los cambios como mejoras en el manejo y en las instalaciones deben estar consensuados, justificados, estudiados y deben ser compatibles con el procedimiento a realizar.

Si nos excedemos en lo que creemos que mejora las instalaciones o con el enriquecimiento, no siempre vamos a conseguir el efecto deseado y con ello, el éxito en el procedimiento, lo que nos puede llevar a repeticiones innecesarias y un mayor uso de animales. El bienestar del animal y el éxito del estudio deben ser paralelos; con mayor éxito el uso de animales se reducirá.



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

Deriva génica: un obstáculo evitable

Marta Casado Pinna
 Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC)

Uno de los pilares de la buena práctica científica es llevar a cabo protocolos de trabajo cuidadosamente diseñados con rigor e inteligencia, ya que uno de los principios de la ciencia es que se puedan reproducir los experimentos. Para poder cumplirlo debemos emplear reactivos definidos, estables en el tiempo. En el caso de la experimentación animal, no podemos considerar al ratón como un reactivo *per se*, dado que su fondo genético influye en la experimentación como lo hace un reactivo químico. La existencia de cepas consanguíneas ha demostrado su valor para la investigación biomédica en aras del control genético. ¿A partir de su creación todos los ratones de una misma cepa son siempre iguales o no? ¿Podemos asegurar la reproducibilidad de nuestra experimentación simplemente si usamos este tipo de cepas? La respuesta obviamente es que no. Cualquier cepa puede ser genéticamente diferente en un determinado momento como resultado de la tendencia que presenta el genoma del ratón, como el de cualquier otra criatura viva, a variar de forma aleatoria a lo largo del tiempo, proceso conocido como deriva genética.

CEPAS CONSANGUÍNEAS

Si bien el primer uso del ratón como animal de laboratorio está datado en 1664 cuando Robert Hooke lo empleó para estudiar las propiedades del aire (Morse 1978), el gran potencial del ratón como modelo en investigación biomédica lo podemos situar a principios del siglo XX gracias a los trabajos de William Castle y sus estudiantes, especialmente Clarence C. Little, que utilizaron al ratón para comprobar si las leyes de Mendel se aplicaban en los mamíferos (Silver 1995). Llevaron a cabo cruces sistemáticos entre parejas emparentadas, seleccionándolas por caracteres fenotípicos únicos. Así generaron en 1909 la primera cepa consanguínea, DBA (Dilute, Brown, non Agouti), de las más de 450 cepas consanguíneas de las que actualmente disponemos (Beck *et al.* 2000).

Las cepas consanguíneas deben descender de un único par de progenitores (endocría), y se consiguen por el acoplamiento sistemático e ininterrumpido entre hermanos y hermanas durante más de 20 generaciones (ver Figura 1). A partir de este momento, el genoma de todos estos ratones tendrá un 98,6% de homocigosidad (Beck *et al.* 2000) y todos los ratones serán genéticamente idénticos (isogénicos) y homocigotos en prácticamente todos los *loci*. De este modo, una cepa consanguínea es un conjunto monoclonal inmortal de individuos idénticos. La principal ventaja de la uniformidad genética es la uniformidad fenotípica proporcionando un fondo homogéneo para estudiar los efectos de las mutaciones causantes de enfermedades. Al ser líneas genéticamente estables, podrán ser utilizadas por múltiples laboratorios y en distintos estudios a lo largo del tiempo, consiguiéndose resultados experimentales más fiables y reproducibles.

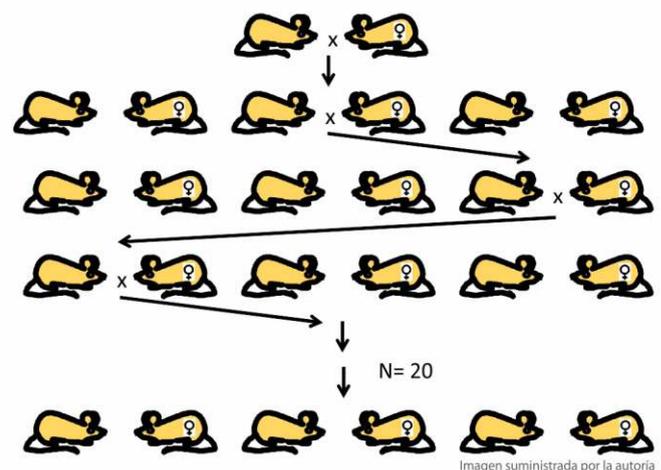


Figura 1.- Sistemática de cría de cepas consanguíneas.

Reproducción y genética

La capacidad de manipular el genoma del ratón es lo que hace que el ratón sea tan relevante. En el contexto de la pureza genética lo más habitual es que tengamos un ratón modificado genéticamente en fondo mixto y queramos llevarlo a fondo puro (línea congénica) –técnicamente es más fácil conseguir transgénicos en fondos mixtos–, o bien tenemos una mutación en un fondo y queremos estudiar su efecto en otro fondo genético. En cualquiera de los dos casos, se lleva a cabo por retrocruzamiento, mediante el cruce repetitivo de animales portadores de una mutación con una línea consanguínea (línea receptora) a través de 10 o más generaciones y seleccionando las crías que han recibido el alelo mutado (ver Figura 2).

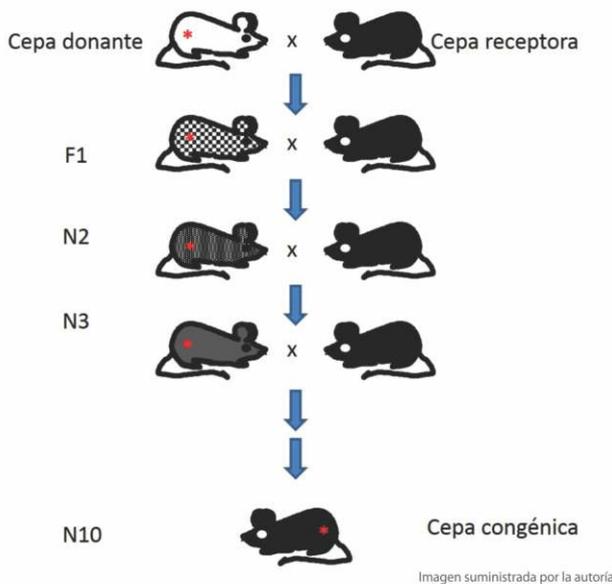


Figura 2.- Retrocruzamiento para generar líneas congénicas.

En ambas situaciones (líneas consanguíneas o congénicas), las cepas son estables, pero no son entidades fijas. Existen fuentes de variación genética: la contaminación genética y la deriva genética.

Durante la cría de ratones hay una posibilidad finita que se cometan errores, lo que conduce a la mezcla accidental de dos cepas de ratones no relacionadas. Esto lleva a una pérdida de la isogenicidad y la uniformidad fenotípica. El resultado de este error será variable, desde un cambio dramático en el fenotipo (p. Ej. un cambio en el color del pelaje) a cambios sutiles no detectables en un principio. Los cambios se volverán más estables en el tiempo a medida que continúan los cruces y el uso involuntario de estas líneas a menudo conducirá a resultados altamente variables, que llevarán a inconsistencias con datos existentes.

DERIVA GENÉTICA

La vida, por supuesto, es compleja y como sugirió Darwin, la variación es la materia prima para la selección (Darwin 1859). Por tanto, no es de extrañar que se produzcan mutaciones espontáneas en los modelos experimentales que mantenemos en un laboratorio. La deriva genética es la tendencia de cualquier alelo a variar de forma aleatoria a lo largo del tiempo y en el ratón se ha calculado que la tasa de mutación es de $1,7 \times 10^{-5}$ mutaciones/locus/generación.

Teniendo en cuenta el sistema de cruces para mantener la endocria en las cepas consanguíneas, tenemos 4 alelos en los que se pueden producir la modificación, por lo que la probabilidad de que se fije la alteración es del 25%. De esta manera, nuevas mutaciones se vuelven fijas en una colonia aproximadamente cada 9-10 generaciones. Debido a que los núcleos reproductores generalmente son retirados y reemplazados 2-3 veces por año, esto significa que las nuevas mutaciones se fijarán dentro de una colonia cada 3-5 años. Pero el tiempo necesario para que la mutación se fije en la colonia va a depender en gran medida del tamaño de la población de trabajo. Así, será más importante cuanto más reducida sea la población, ya que la propagación de la mutación es estadísticamente más importante. Si nuestra colonia se mantiene con 100 animales y en uno de ellos se produce la mutación, la probabilidad de que escojamos ese animal para mantener la colonia es del 2% (ver Figura 3A). Por el contrario, si mantenemos la colonia con 10 animales y en uno de los animales se produce la mutación, la probabilidad será del 20% (ver Figura 3B).

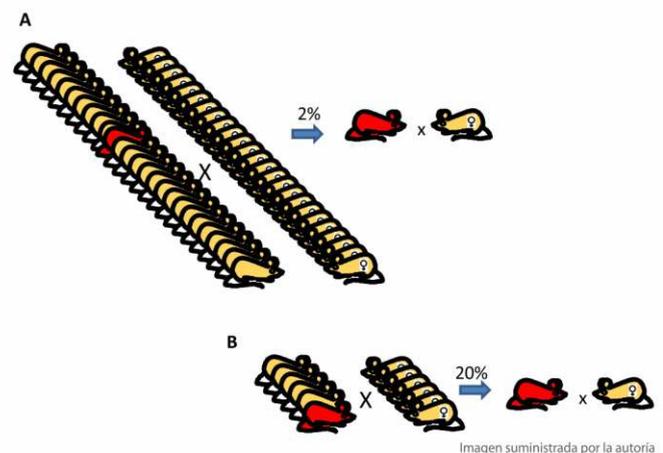


Figura 3.- La deriva genética es estadísticamente más importante en poblaciones pequeñas.

Un ejemplo de la importancia de la deriva génica la tenemos entre las distintas subcepas C57BL/6 de las que disponemos, dependiendo de la casa comercial de la que obtengamos el modelo. Aunque las distintas cepas C57BL/6 comparten el mismo origen, la deriva genética las ha convertido en sublíneas (ver Figura 4) con algunas diferencias que, según el campo de estudio, pueden llegar a ser importantes (Mekada *et al.* 2009 y Zurita *et al.* 2011). Todas ellas proceden de la cepa original generada por Clarence Little en 1921 del cruce de la hembra 57 con el macho 52 del stock de la tienda de mascotas de Miss Abbie Lathrop. La subcepa que mantiene las características originales es la subcepa C57BL/6J. En 1951, se produjeron mutaciones en la colonia que mantenía el *National Institutes of Health* (NIH), surgiendo la cepa C57BL/6N. A partir de esas 2 cepas, la distribución entre distintos

laboratorios y suministradores y la deriva génica han dado lugar al resto de cepas conocidas. Aunque externamente son muy similares –fenotípicamente todas ellas tienen un pelaje de color negro asociado al alelo mutante *nonagouti* (*a*), que llevan en homocigosidad–, se han identificado distintas mutaciones (ver Tabla 1) asociadas al control de la homeostasis de la glucosa y función mitocondrial (*nicotinamide nucleotide transhydrogenase*, *Nnt*), aprendizaje y adaptación (*alpha synuclein*, *Snca*), adhesión plaquetaria (*multimerin 1*, *Mnrr1*), o degeneración retiniana (*retinal degeneration 8*, *Rd8*). Se han analizado 1.449 polimorfismos de un único nucleótido (3 SNPs/5 Mb intervalo a lo largo del genoma) y se han identificado sólo 12 SNPs diferentes entre las distintas cepas C57BL/6 (ver Figura 5).

The Jackson Laboratory	C57BL/6J (JAX mouse #000664) C57BL/6NJ (JAX mouse #005304)
Charles River	C57BL/6J actualmente equivalente a la de Jackson C57BL/6NCrI
Harlan	C57BL/6JCrI, disponible solo en UK. Discontinuada. C57BL/6JOlaHsd C57BL/6JRccHsd C57BL/6NHsd
Taconic	C57BL/6NTac C57BL/6JBomTac



Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- C57, un ratón con ocho apellidos.

Tabla 1.- Mutaciones diferenciales identificadas entre distintas subcepas C57BL/6.

Cepa	Suministrador	Delección			
		Nnt	Snca	Mnrr1	Rd8
C57BL/6JOla Hsd	Envigo	No	Si	Si	No
C57BL/6JRcc Hsd	Envigo	No	No	No	No
C57BL/6NHsd	Envigo	No	No	No	Yes
C57BL/6J	Jackson Laboratory	Yes	No	No	No
C57BL/6JByJ	Jackson Laboratory	No	No	No	No
C57BL/6JCrI	Charles River	Yes	No	No	No
C57BL/6NCrI	Charles River	No	No	No	Yes
C57BL/6JBomTac	Taconic	No	No	No	No
C57BL/6NTac	Taconic	No	No	No	Yes

Imagen suministrada por la autoría

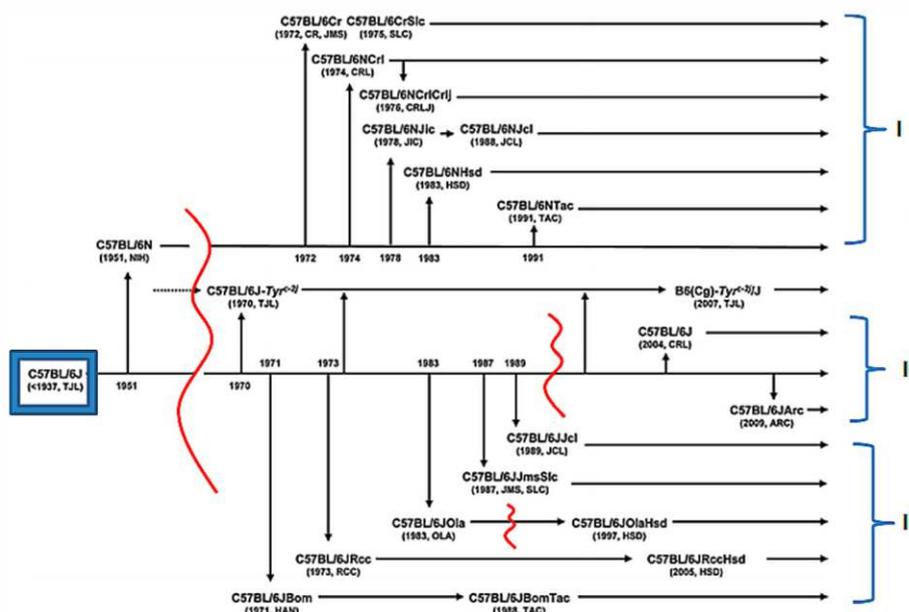


Imagen suministrada por la autoría

Figura 5.- Comparativa basada en el estudio de 1440 SNPs; II ≠ I en 9; SNPs III ≠ I en esos 9 + 3 SNPs; Modificado de Zurita E., Chagoyen M., Cantero M., *et al.* Genetic polymorphisms among C57BL/6 mouse inbred strains. Transgenic Res. 2011;20:481-9.

Reproducción y genética

Como ejemplo de lo que puede afectar a una investigación, cabe mencionar el trabajo de Mahajan publicado en *Cell Reports* (Mahajan *et al.* 2016), cuyo grupo había descrito defectos en el desarrollo de las células B al alterar genéticamente la vía del ácido siálico. Estos datos los obtuvieron bajo el fondo C57BL/6NHsd. Sin embargo, al modificar el fondo genético a C57BL/6J el efecto no se mantenía. Gracias a la secuenciación del genoma de la cepa originaria pudieron identificar una delección del gen *Dock2* únicamente presente en la cepa C57BL/6NHsd. Esta mutación no se encuentra ni en la cepa B6 ni en las cepas B6N de otras fuentes comerciales. A raíz de este resultado, está claro que cualquier estudio del sistema inmune o hematopoyético que se ha llevado a cabo usando esta cepa en concreto necesitará ser reinterpretado.

¿CÓMO CONTROLAR LA DERIVA GÉNICA?

Como se ha mencionado anteriormente, la deriva génica puede llegar a comprometer la reproducibilidad de los datos experimentales. Su impacto en la investigación depende de la naturaleza de las nuevas mutaciones y de la investigación en la que se utilizan las cepas. Hay que tener en cuenta que la mayoría de las mutaciones no dan como resultado un fenotipo visible. La sensación es como caminar a través de un campo minado; es sólo cuestión de tiempo antes de que una mutación espontánea afecte a un experimento de forma inesperada.

El cambio genético no se puede evitar, pero sí ralentizar y minimizar sus efectos. Estos son algunos consejos prácticos que pueden ayudar a conseguirlo:

- Es necesario conocer de manera precisa el fondo genético con el que se está trabajando, no sólo para determinar cuáles son los controles a emplear en el experimento, sino también para conocer las características fenotípicas de la cepa. Se deben mantener registros detallados de la colonia con el fin de detectar rápidamente cualquier modificación fenotípica.
- En este mismo sentido, esta información debe ser proporcionada a la comunidad científica. Usar una adecuada nomenclatura y utilizar el llamado “pasaporte del ratón” facilitaría una información correcta. Igualmente, seguir las directrices de la guía *Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments* (ARRIVE) mejoraría la comunicación de los hallazgos de la investigación a una comunidad científica más amplia. Las directrices ARRIVE se desarrollaron como parte de una iniciativa del *National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research* (NC3Rs), para mejorar el diseño, análisis y publicación de investigación con animales, maximizando la información publicada y

minimizando estudios innecesarios. Su objetivo es guiar a los autores sobre la información esencial que debería incluirse en un manuscrito con el fin de elaborar manuscritos reproducibles, transparentes, precisos, completos, organizados de forma lógica y bien escritos (Kilkenny *et al.* 2010).

- Evitar la presión selectiva; por ejemplo, elegir progenitores que producen camadas inusualmente grandes o que se reproducen durante más tiempo puede seleccionar mutaciones que reduzcan la gravedad o retrasen la aparición del mismo fenotipo que hace que la cepa sea útil para su investigación.
- Refrescar los reproductores con frecuencia (recomendable máximo cada 10 generaciones).
- Criopreservar modelos únicos, configurando el reloj genético a la vez que la criopreservación.

CONCLUSIONES

La deriva genética es la pesadilla de todo investigador. Es una fuerza sutil e insidiosa que causa que las poblaciones de una cepa de ratón diverjan genéticamente, y es la base para el desarrollo de subcepas. Desde un punto de vista práctico, puede confundir los resultados experimentales, lo que lleva a conclusiones falsas y resultados irreproducibles. La deriva genética no se puede detener y todas las colonias de ratones que se reproducen activamente son vulnerables a ella. Afortunadamente, se pueden tomar medidas para minimizar sus consecuencias: CONOCER, INFORMAR y CRIOPRESERVAR.

BIBLIOGRAFÍA

- Beck J.A., Lloyd S., Hafezparast M., *et al.* *Genealogies of mouse inbred strains.* *Nature Genetics.* 2000,24(1):23-5.
- Darwin C. *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life.* London: John Murray. 1859.
- Kilkenny C., Browne W.J., Cuthill I.C., *et al.* *Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research.* *PLoS Biology.* 2010,8(6),e1000412.
- Mahajan V.S., Demissie E., Mattoo H., *et al.* *Striking Immune Phenotypes in Gene-Targeted Mice Are Driven by a Copy-Number Variant Originating from a Commercially Available C57BL/6 Strain.* *Cell reports.* 2016,15(9):1901-9.
- Mekada K., Abe K., Murakami A., *et al.* *Genetic differences among C57BL/6 substrains.* *Experimental Animals.* 2009,58(2):141-9.
- Morse H.C. *Origins of inbred Mice.* Academic Press. 1978.
- Silver L.M. *Mouse genetics.* Oxford University Press. 1995.
- Zurita E., Chagoyen M., Cantero M., *et al.* *Genetic polymorphisms among C57BL/6 mouse inbred strains.* *Transgenic Research.* 2011,20(3):481-9.



Todo lo que
necesita saber

www.secal.es

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



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

Histología del pez cebra, *Danio rerio* (Parte I)

Ana Isabel Nieto¹ y Ana M. Santos²

¹Unidad de Experimentación Animal y ²Unidad de Microscopía
Centro de Instrumentación Científica. Universidad de Granada

Ya nadie duda de que el pez cebra es un modelo de animal vertebrado apropiado para el estudio del papel de muchos genes y sus señales de expresión. También se ha probado su valor como modelo de enfermedades humanas, siendo muy usado en patologías neurodegenerativas como Parkinson, Huntington o Alzheimer (Xi *et al.* 2011, Basset y Curri 2003). Por otro lado, su uso es cada vez más frecuente, de manera que en el año 2016 –según fuentes del Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente– el uso de peces cebra supuso el 11,05% del total de los animales usados en experimentación en España, lo que supone el segundo modelo animal más usado tras el ratón.

La secuenciación de su genoma y la facilidad de conseguir animales modificados genéticamente han hecho que numerosos grupos de investigación y compañías farmacéuticas los utilicen para realizar test previos al uso de otros vertebrados, por no hablar de estudios de ecotoxicidad.

Sin embargo, para conseguir que el pez cebra se convierta en un modelo excelente, es necesario conocer, con la máxima profundidad posible, tanto su fisiología como su anatomía e histología. En esta revisión, vamos a tratar de mostrar de forma resumida la histología de los principales órganos del pez cebra adulto, con su localización y una descripción de su función, comenzando como siempre por el procesado de las muestras.

PREPARACIÓN HISTOLÓGICA DE LAS MUESTRAS

Normalmente, los animales son sacrificados mediante el uso de metanosulfonato de tricáina en *buffer*. Podemos, en ese momento, realizar una primera valoración del estado general del animal o directamente pasar a su fijación.

Como fijadores se pueden utilizar tanto la formalina tamponada al 10% como el fijador de Davidson, que es nuestra recomendación, ya que endurece ligeramente la muestra y nos

facilita el corte de determinados órganos (p. Ej. ojos) y una mejor conservación de algunas estructuras como las branquias. Mantendremos al pez unas 24 horas en estos fijadores, aunque este tiempo dependerá de la edad y del tamaño del animal. Tras la fijación, podemos pasarlos por un descalcificador unas cuantas horas, aunque eso no siempre es necesario. Recomendamos el ácido fórmico o una solución de EDTA.

Si queremos observar todos los órganos, como es nuestro caso, podemos colocar al pez en un casete histológico y procesarlo completo para embeberlo en parafina y hacer cortes seriados. Es muy importante la colocación precisa del animal a la hora de realizar el bloque de parafina para que los cortes nos salgan luego comparables. Debe colocarse de forma que podamos realizar cortes parasagittales del animal. Así, a la hora de cortar, podemos considerar 5 secciones en el pez, dos en el lado izquierdo, una central y otras dos en el lado derecho. Si realizamos dos cortes de cada sección hasta obtener 10 cortes por pez, podemos evaluar la mayoría de los órganos del animal. Una tinción de Hematoxilina-Eosina es suficiente para su valoración, aunque siempre podremos utilizar tinciones especiales para poner de manifiesto algunos componentes o estructuras específicos (aunque ver Tabla 1).

Tabla 1. - Tejidos no encontrados en el pez cebra.

Tejidos no encontrados en el pez cebra.
Glándula adrenal
Médula ósea
Estómago glandular
Folículos pilosos
Pulmones
Ganglios linfáticos
Glándula mamaria
Glándulas salivares
Células C en la glándula tiroidea
Vejiga de la orina
Útero

Piel

A diferencia de los mamíferos, los peces no tienen capa de queratina en el último estrato de la epidermis, con excepción de una pequeña zona de epitelio queratinizado en la mandíbula y las aletas. La superficie es rugosa y cubierta de una cutícula, que es lo que le protege de las agresiones del medio. Puesto que se suele perder durante el procesamiento de la muestra, no se suele observar en los cortes histológicos. Por otro lado, posee unas estructuras especializadas como son (ver Figura 1):

- **Células mucosas:** Secretan un moco que lubrica la superficie y son fácilmente visibles en las secciones histológicas. Presentan el citoplasma con contenido mucoso positivo a la técnica de PAS y desplazan al núcleo hacia la periferia de la célula.
- **Células de alarma:** Presentan el citoplasma más pálido y un núcleo más pequeño. Se localizan sobre todo en la cabeza y contienen feromonas derivadas de la hipoxantina, que son liberadas cuando la piel es dañada por un depredador, lo que les asegura un sistema de alarma para el resto de los animales de alrededor.
- **Quimiorreceptores:** Similares a papilas gustativas de otros animales, están localizadas en la epidermis, también en la región de la cabeza y son células más claras (gustativas) y más oscuras (soporte).
- **Células pigmentadas:** Se localizan en los estratos más profundos y contienen diferentes tipos de pigmentos:
 - *Melanóforos:* Son de color marrón y contienen melanina.
 - *Iridóforos:* Un pigmento de color plateado compuesto de carotenos.
 - *Xantóforos:* Con un pigmento de color amarillento.

La unión de las células con pigmento marrón (melanóforos) y amarillentos (iridóforos) da lugar al color azul de las características bandas horizontales del pez cebra.

Las escamas están formadas por una membrana ósea que queda en un compartimento entre la epidermis y la dermis. Se forman a partir de las células mesenquimales de la dermis. En el pez cebra, como las de la mayoría de los peces teleósteos, son de tipo cicloide y se solapan unas con otras para conferir protección, aunque histológicamente pueden aparecer adheridas unas a otras. Contienen hidroxapatita y colágeno de tipo I. Durante el desarrollo del animal, se van originando desde la porción más caudal a la más craneal.

En la dermis tenemos dos estratos, uno más laxo y otro más profundo y compacto en contacto con el músculo esquelético.

Las funciones más importantes de la piel son servir de barrera para patógenos y como sistema de defensa, ya que el contenido mucoso de las células contiene sustancias que actúan como antibióticos, péptidos, lisozimas y proteasas. Además, mantiene el balance iónico que, de otra manera, produciría un edema generalizado.

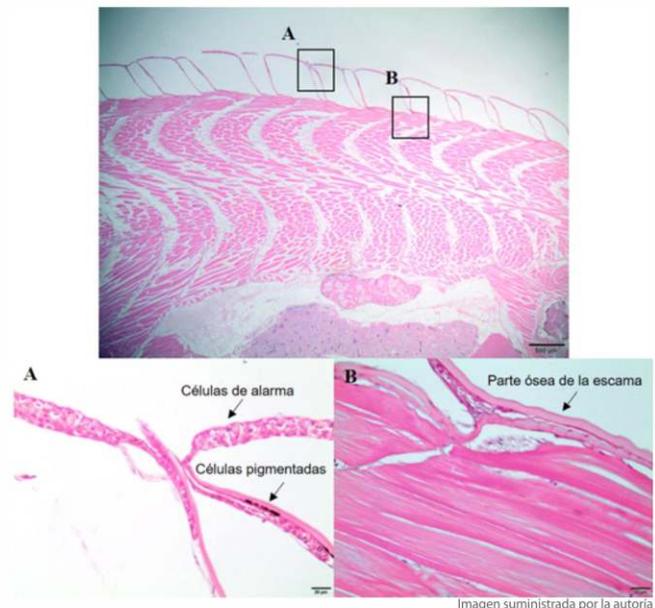


Figura 1.- Piel y escamas (2x). **A.** Piel con presencia de células mucosas y de alarma (40x). **B.** Escama con parte interna ósea. Línea lateral (40x).

Sistema de líneas laterales

Es un mecanismo sensorial rodeado de cartílago y hueso situado bajo las escamas. Está formado por una serie de canales con células de soporte y células ciliadas que son las responsables de transmitir las señales sensitivas del medio a los nervios craneales. Se pueden observar macroscópicamente como una línea porosa a los lados del pez.

Sistema musculoesquelético

Los peces cebra son peces óseos con un esqueleto axial que incluye el cráneo, la columna, diez pares de costillas y las cinturas pectoral y pélvica. En cuanto a las aletas, poseen dos pares pectorales, dos pélvicas, una dorsal, una anal y otra caudal.

Tinciones y tejidos

La histología del sistema óseo es muy similar a la de los mamíferos, aunque no existe hematopoyesis intramedular. La mayoría de los huesos tienen una osificación endocondral, excepto el cráneo, cuya osificación es de tipo membranoso.

En general, contienen pocos osteocitos o incluso, hay huecos acelulares, aunque sí poseen osteoblastos, encargados de la síntesis de la matriz ósea, y osteoclastos multinucleares, encargados de la reabsorción.

En cuanto al cartílago, como en los mamíferos, es de tipo hialino, fibrocartílago o elástico y sirve para, junto con los huesos, proporcionar firmeza al pez. Está formado por los condrocitos embebidos en la matriz extracelular de colágeno, proteoglicanos y glicoproteínas.

El músculo esquelético está integrado por fibras musculares estriadas que se unen para formar miómeros, que es la unidad funcional. Entre éstos, aparece tejido conjuntivo formando mioseptos y que divide al músculo en 4 cuadrantes, mediante septos verticales y horizontales. Contienen a su vez los vasos sanguíneos.

Desde un punto de vista funcional, hay dos tipos de músculo esquelético, sólo distinguibles mediante microscopía electrónica o marcaje histoquímico. Son el músculo blanco y el rojo que se diferencian en la vascularización y el contenido de mioglobina.

El músculo blanco forma la mayor parte de la musculatura del tronco y se caracteriza por tener fibras de mayor diámetro y contracción rápida y en anaerobiosis. Contiene menos vasos, con menos mioglobina (de ahí su color) y pocas mitocondrias. Es un músculo que se fatiga rápidamente y es usado para movimientos cortos y rápidos.

El músculo rojo, por el contrario, se caracteriza por tener mayor número de vasos y una mayor concentración de mioglobina y mitocondrias. Tiene forma de flecha y se localiza en forma de bandas en las zonas laterales. Las fibras musculares (ver Figura 2) son de menor tamaño, se contraen lentamente de forma aerobia y son resistentes a la fatiga, para movimientos de natación continua. Desde el punto de vista práctico, es una zona más adecuada para hacer inyecciones ya que contiene mayor número de vasos.

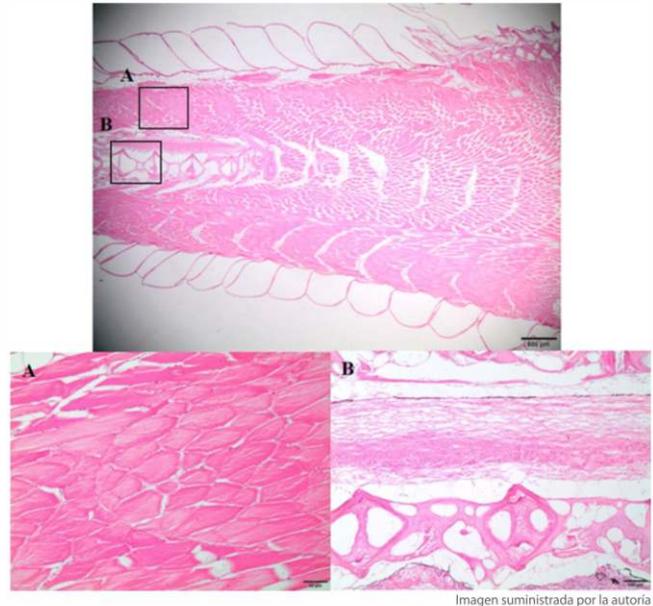


Figura 2.- Sistema musculoesquelético del pez cebra (panorámica, 2x). **A.** Músculo esquelético (detalle, 20x). **B.** Vértebras (detalle, 10x).

Sistema cardiovascular

Está constituido por el corazón y los vasos sanguíneos y linfáticos.

En los peces, el corazón (ver Figura 3) está situado en la parte anterior de la cavidad corporal y central al esófago. Está formado por 2 cámaras con 4 compartimentos y la pared posee un pericardio externo, un miocardio con capacidad de regeneración y un endocardio similar a la túnica íntima vascular, formado por una capa de células endoteliales. Externamente, el corazón está rodeado por el epicardio, de tejido fibroso, que permite la contracción del órgano al estar relleno del líquido pericárdico.

Los cuatro compartimentos del corazón del pez cebra son:

- **Seno venoso:** Similar a la vena cava craneal. A través de una válvula seno-auricular se comunica con la aurícula. La sangre venosa entra dentro de este seno, cuyas paredes son delgadas y están formadas principalmente por un tejido conjuntivo de colágeno.
- **Aurícula:** Está formada por una pared muscular que constituye el miocardio y por finas trabéculas que forman una red hacia la luz. La contracción de la aurícula y la dilatación del

ventrículo permiten el paso de la sangre a través de la válvula atrio-ventricular.

- **Ventrículo:** Posee una pared mucho más gruesa que la aurícula, formada por una capa compacta de músculo en la parte más externa y una más esponjosa en la interna, con numerosas trabéculas. Al contraerse, provoca un aumento de la presión, enviando la sangre hacia el bulbo arterioso a través de la válvula ventrículo-bulbal.
- **Bulbo arterioso:** Vuelve a tener una pared gruesa formada por un tejido fibroelástico y algunas fibras musculares. Esta elasticidad le permite distenderse cuando el ventrículo envía la sangre. Su recuperación gradual permite mantener constante el flujo de sangre hacia las branquias evitando dañar la delicada vasculatura de éstas. La parte interna está cubierta por el endocardio. No posee válvulas. Desde el bulbo arterioso la sangre se distribuye, a través de la aorta ventral y las arterias branquiales aferentes, hacia las branquias.

En la pared de las venas y arterias se distinguen tres capas como en los mamíferos: íntima, túnica media y adventicia. Las arterias se clasifican en elásticas, las más cercanas al corazón y con una capa rica en elastina (arteria aorta central y arterias branquiales) y musculares, donde la túnica media es más rica en fibras musculares lisas. Las venas son similares a las de los mamíferos, aunque más finas y con menos músculo liso en su pared. Los capilares son más permeables, pudiendo ser continuos,

como los presentes en los músculos o la retina o fenestrados, como los glomerulares.

El sistema portal hepático lleva sangre venosa desde el intestino al hígado, formando parte de la circulación enterohepática. Por otro lado, el sistema portal renal conduce la sangre venosa desde la musculatura de la parte caudal del animal al riñón, lo que debe considerarse en el caso de hacer inyecciones en los músculos de la parte posterior del animal.

Sangre periférica y tejido hematopoyético

A diferencia de los mamíferos, los peces cebra carecen de médula ósea. La hematopoyesis se realiza en el estroma del bazo y, sobre todo, en el intersticio renal, en el caso de los adultos.

En la sangre circulante encontramos eritrocitos con una morfología oval y nucleada. Transportan el oxígeno y, en menor medida, el dióxido de carbono y usan el metabolismo aerobio para crear ATP. También las plaquetas son nucleadas y participan, como en los mamíferos, en la coagulación. Dentro de los leucocitos, encontramos los mismos tipos que en los mamíferos con el mismo papel de defensa contra las infecciones y sustancias extrañas. Los heterófilos presentan una morfología similar a los neutrófilos de los mamíferos, con el citoplasma pálido y el núcleo segmentado. Sin embargo, los eosinófilos son diferentes, con un citoplasma eosinófilo y un núcleo no segmentado localizado en la periferia de la célula. Su función no está clara y parece ser una combinación entre los eosinófilos y los mastocitos de los mamíferos. Los monocitos son similares a los de los mamíferos y se transforman en macrófagos, que son más evidentes en tejidos como el riñón o el bazo. Pasan entonces a ser células con citoplasmas vacuolizados, que contienen material fagocitado, incluidos pigmentos y restos de células. También tienen linfocitos B y T, suponiendo entre el 70-90% de la población de leucocitos del pez cebra.

Riñón como sistema hematopoyético

El riñón (ver Figura 4) del pez cebra actúa de manera similar a la médula ósea de los mamíferos. En la parte más craneal, en el intersticio renal, aparece un sistema reticular de fibras que forman un soporte para el desarrollo de las células hematopoyéticas y su maduración. A través de las células endoteliales de los vasos, las células sanguíneas son filtradas y transportadas a la vena porta renal, desde donde pasan a la circulación general. Cuando se produce un proceso inflamatorio, aparecen numerosos precursores de linfocitos en este intersticio renal.

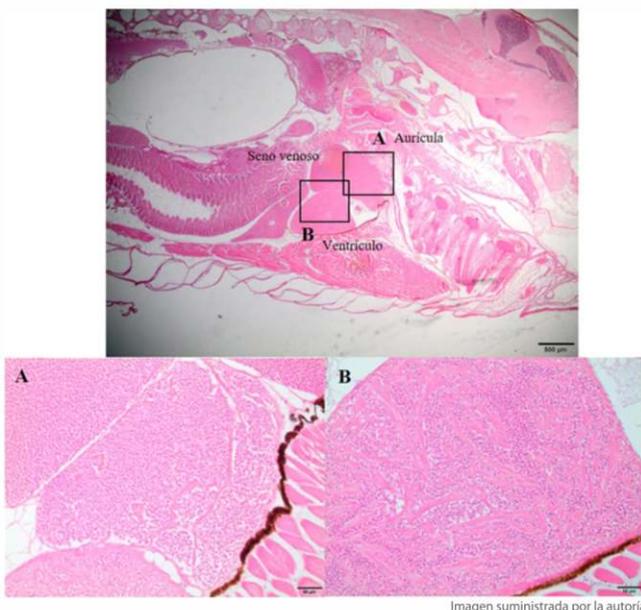


Imagen suministrada por la autora

Figura 3.- Corazón del pez cebra (panorámica, 2x). **A.** Aurícula (detalle, 20x). **B.** Ventrículo (detalle, 20x).

Tinciones y tejidos

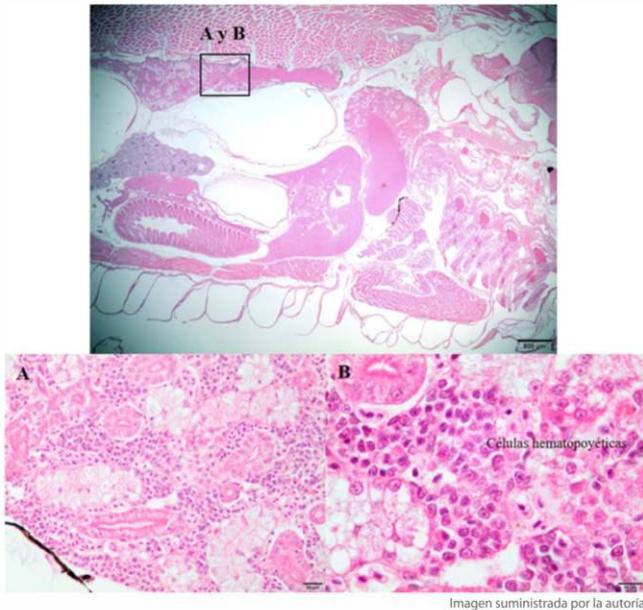


Figura 4.- Riñón (panorámica, 2x). **A y B.** Zona de hematopoyesis en el intersticio renal (detalle, 20x y 40x, respectivamente).

Bazo

Como otros peces teleósteos, los peces cebras carecen de ganglios linfáticos y son el bazo y el riñón los encargados de la filtración y eliminación de sustancias extrañas y células sanguíneas envejecidas.

El bazo (ver Figura 5) es un órgano de color rojo situado en la parte izquierda del abdomen debajo de la vejiga natatoria. Presenta una fina cápsula y en el parénquima encontramos dos tipos de pulpa: roja y blanca. La pulpa roja contiene eritrocitos, trombocitos y unas formaciones elipsoidales integradas por arterias rodeadas de macrófagos y células reticulares. La pulpa blanca está constituida por linfocitos alrededor de arterias esplénicas; en ella también se pueden observar macrófagos con pigmentos, cuya concentración puede aumentar en el caso de animales estresados o con algún proceso patológico.

Las formaciones elipsoidales juegan un papel importante en el sistema inmunitario ya que bacterias o cuerpos extraños pueden verse atrapados en ellas siendo posteriormente eliminados por los macrófagos.

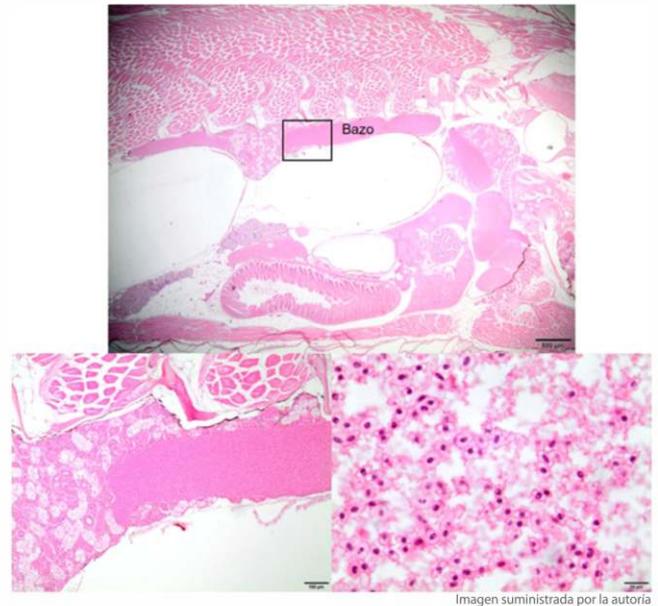


Figura 5.- En la imagen superior se observa la localización del bazo en el pez cebras (2x). En la imagen inferior izquierda se puede apreciar el aumento de la región recuadrada que muestra un detalle del bazo (10x). En la imagen inferior derecha se aprecia detalladamente la sangre periférica (100x).

Timo

Es un órgano par localizado en la zona dorsal a las branquias (ver Figura 6), que no suele involucionar y que está formado por una serie de trabéculas sobre las que se asientan los timocitos y otras células del sistema inmune, sobre todo macrófagos. No se distinguen como en mamíferos una parte cortical y otra medular, pero su función es similar, con la maduración y diferenciación de los linfocitos antes de salir a la sangre periférica.

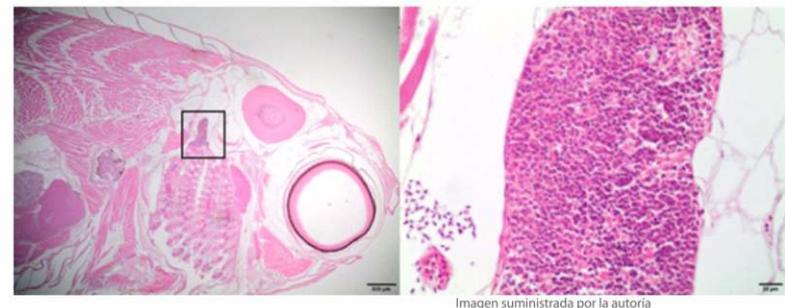


Figura 6.- En la imagen de la izquierda se aprecia la región craneal del pez cebras en la que se señala la localización del timo (panorámica, 2x). En la imagen de la derecha se observa un aumento de la región recuadrada (40x).

Sistema respiratorio

Las branquias (ver Figura 7) son los órganos de intercambio de oxígeno en el pez cebra. Son bilaterales y cada cavidad contiene 4 grupos de arcos branquiales de naturaleza cartilaginosa. El agua pasa desde la boca hacia las branquias y sale a través de los opérculos, fluyendo gracias a las expansiones y contracciones de estas dos cavidades.

La sangre, por su parte, llega a través de las arterias aferentes desde la aorta ventral hasta las lamelas primarias y de allí a los espacios vasculares de las lamelas secundarias, que se ramifican a partir de las primarias y donde se realiza el intercambio de CO₂ por oxígeno.

La lamela primaria tiene una parte central cartilaginosa que sostiene los vasos aferentes y eferentes, recubierta por un epitelio cúbico. Las lamelas secundarias están formadas por una capa de células epiteliales junto con capilares sanguíneos (para realizar el intercambio gaseoso), las células de soporte de los vasos (*pillar cells*) y otras células secretoras de moco o ácido clorhídrico. La sangre oxigenada sale a través de las arterias eferentes a la aorta dorsal y se distribuye a los tejidos.



Figura 7.- Región craneal del pez cebra en la que se señala la localización de las branquias. Se pueden observar los cuatro arcos branquiales (2x). **A.** Branquias primarias (10x). **B.** Branquias secundarias (40x).

Además de la oxigenación de la sangre, en las branquias se producen fenómenos de osmorregulación, equilibrio en el balance ácido-base y excreción de productos de desecho como el nitrógeno.

La gran superficie de exposición de los capilares al agua hace que el intercambio gaseoso sea fácil, pero también la entrada de patógenos o sustancias irritantes por lo que este tejido es muy sensible a agresiones externas.

Sistema urinario

El riñón (ver Figura 8) del pez cebra está localizado en posición retroperitoneal, ventral a la columna vertebral. Está dividido en dos partes: una región anterior, principalmente hematopoyética, donde se encuentran también algunos órganos endocrinos y túbulo renales, y una posterior, que contiene la mayor cantidad de túbulo renales y se sitúa sobre la vejiga natatoria.

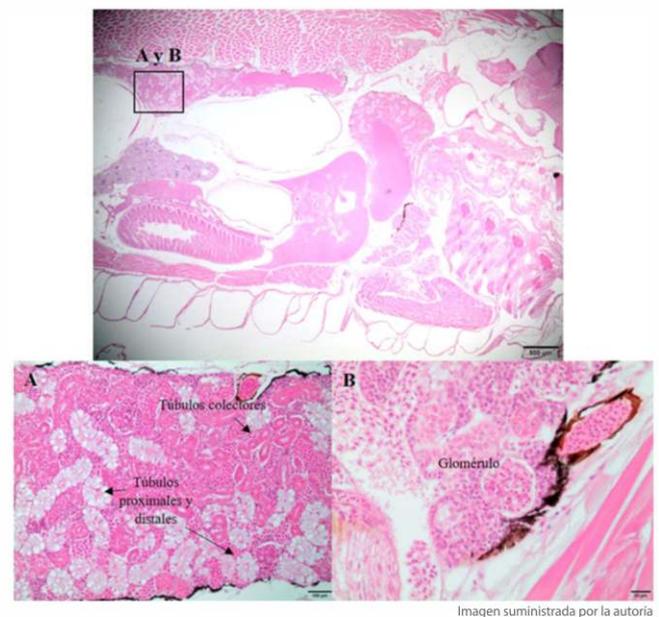


Figura 8.- Localización del riñón en el pez cebra (2x). **A.** Túbulo renales (10x). **B.** Detalle de un glomérulo renal (40x).

Histológicamente, carece de la división entre corteza y médula y de las asas de Henle, pero posee nefronas con glomérulos, túbulo proximal, distal y colector. Los túbulo proximal y distal son difíciles de distinguir con Hematoxilina-Eosina. Los glomérulos renales están constituidos por capilares densamente concentrados, dentro de la cápsula de Bowman.

Tinciones y tejidos

Un ultrafiltrado del plasma pasa desde el glomérulo hasta los túbulos renales, donde se absorbe hasta el 85% del agua y el 95% del cloruro sódico filtrado para concentrar la orina y de aquí pasa a los túbulos colectores. El uréter se abre directamente al exterior sin presencia de vejiga. Está formado por un epitelio cilíndrico ciliado.

Los peces cebra son hipertónicos respecto al medio que los rodea por lo que deben estar continuamente excretando orina para evitar que se produzca un edema sistémico.

BIBLIOGRAFÍA

- Bassett D.I. and Currie P.D. *The zebrafish as a model for nuclear dystrophy and congenital myopathy*. Hum. Mol. Genet. 2003,12:265-70.
- Menke A.L., Spitsbergen J.M., Wolterbeek A.P., et al. *Normal anatomy and histology of the adult zebrafish*. Toxicol. Pathol. 2011,39(5):759-75.
- Mokhtar D.M. *Fish Histology: From Cells to Organs*. CRC Press. Apple Academic Press, Canadá. 2017.
- Wolf J.C. *Zebrafish: Anatomy, histology and physiology*. Laboratories (EPL). Inc. Sterling, VA. www.cldavis.org/cgi-bin/download.cgi?pid=939
- Xi Y., Noble S., and Ekker M. *Modelling neurodegeneration in zebrafish*. Curr. Neurol. Neurocic. Rep. 2011,11(3):274-82.

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

ESTAMOS
EN EL CENTRO DE
LA INVESTIGACIÓN
EN HABLA
HISPANA

 sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

www.secal.es



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



PEP ICLAS PROGRAM: Una herramienta para la evaluación del diagnóstico de muestras para monitorización de patógenos en animales de laboratorio

Sandra Barbosa Pérez

SIAL Serveis Integrats d'Animals de Laboratoril (SIAL)

En todo animalario en que se mantengan y críen roedores, el sistema de monitorización microbiológico es una herramienta fundamental. El conocimiento de la situación sanitaria de las diferentes áreas del animalario y su evolución a lo largo del tiempo asegurarán la reproducibilidad de los experimentos con los animales sujetos a estudio y la calidad de los resultados.

El mayor peso de este sistema de monitorización microbiológico corre a cargo del propio animalario, que debe decidir qué *status* sanitario desea asignar a cada área de la instalación (convencional, barrera SPF, SOPF, unidad de gnotobióticos, etc.) y diseñar un sistema de monitorización que permita obtener muestras representativas de las diferentes áreas de manera periódica. Este sistema debe proporcionar resultados para todos los patógenos que nos interesan, y que, por otro lado, la frecuencia en la que se realice sea suficiente para implementar las medidas correctoras en caso necesario y dar continuidad a los experimentos con la máxima calidad.

El sistema de monitorización estará íntimamente ligado a los protocolos de desinfección y mantenimiento de barrera microbiológica que se decidan para mantener el *status* sanitario en cada caso. Con un buen diseño de este sistema tenemos muchas posibilidades de salir airosos en nuestro propósito de mantener nuestro *status* sanitario deseado.

No obstante, una vez se obtienen las muestras para análisis de patógenos, a no ser que se trate de un animalario de cría comercial en escala, estos análisis serán realizados por un tercero, un laboratorio de diagnóstico en el que deberemos depositar nuestra confianza y el trabajo realizado en nuestro sistema de monitorización.

En las últimas décadas, tanto la prevalencia de los patógenos en animales de laboratorio como las técnicas de detección de los

mismos han variado enormemente. Para la mayoría de los patógenos, las prevalencias son muy bajas y la sensibilidad y especificidad de las técnicas han mejorado mucho. En concreto, las técnicas de diagnóstico molecular permiten evaluar de manera muy sensible cantidades ínfimas de material genético en las muestras. Éstas pueden derivar de tejidos animales o bien de hisopos impregnados, o incluso –y cada vez más frecuentemente– de partículas provenientes de los sistemas de confinamiento primario o secundario de los roedores.

No obstante, esta baja prevalencia hace que, independientemente de los propios controles internos de los test de diagnóstico, no haya variedad de muestras de referencia con las que los laboratorios puedan evaluar su capacidad diagnóstica.

Por esta necesidad surgió hace unos años a través del *International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS)* el *Performance Evaluation Program (PEP)*.

¿Qué es el ICLAS-PEP?

Es un programa diseñado para permitir a los laboratorios de diagnóstico animal monitorizar su capacidad de diagnóstico y perfeccionarla mediante un proceso de auto-evaluación.

Este programa se creó en 2007 y, actualmente, cuenta con más de 25 laboratorios participantes, distribuidos a lo largo de varios continentes. Cualquier laboratorio de diagnóstico puede participar, dado que no hay requerimientos específicos para entrar en el programa. La participación sólo implica el pago de una cuota para cubrir los gastos de generación de las muestras y el servicio de mensajería.

Laboratorios Participantes

Los laboratorios participantes reciben muestras, primordialmente, de roedor (ver Tabla 1) que han sido generadas y estandarizadas por los Laboratorios Principales (*Network Laboratories*).

Tabla 1.- Biblioteca de muestras utilizadas en el *Performance Evaluation Program*.

Agent	Mouse		Rat	
	Sera	Micro	Sera	Micro
Blank	✓		✓	
MPV (Mouse Parvovirus)	✓	✓		
RPV (Rat Parvovirus)			✓	✓
KRV (Kilham Rat Virus)			✓	
RMV (Rat Minute Virus)			✓	✓
Toolan's Virus H1			✓	✓
MVM (Minute Virus of Mice)	✓	✓		
MHV (Mouse Hepatitis Virus)	✓	✓		
SDAV (Sialodacryoadenitis Virus)			✓	✓
LCMV (Lymphocytic choriomeningitis virus)	✓	✓		
Ectromelia Virus	✓	✓		
Theiler's Murine Encephalomyelitis Virus GD7	✓	✓		
RTV (Rat Theilovirus)			✓	
Hantaan Virus	✓			
PVM (Pneumonia virus of mice)		✓	✓	
Sendai Virus	✓	✓	✓	✓
MNV (Murine Norovirus)	✓			
Adenovirus Type 1 (FL)		✓		
Mouse Reovirus 3	✓			
Polyoma Virus	✓			
Puumala Virus	✓			
MCMV (Mouse Cytomegalovirus)	✓			
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	✓	✓	✓	✓
<i>Pasteurella pneumotropica</i>		✓		
<i>Pasteurella multocida</i>		✓		✓
<i>Bordetella bronchiseptica</i>		✓		✓
CAR Bacillus	✓		✓	
<i>Bordetella hinzii</i>		✓		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>				✓
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		✓		

Imagen suministrada por la autoría

...Continuación Agent	Mouse		Rat	
	Sera	Micro	Sera	Micro
<i>Streptococcus agalactiae</i>				✓
<i>Actinobacillus muris</i>		✓		✓
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		✓		
<i>Serratia marcescens</i>		✓		
<i>Aeromonas hydrophila</i>				✓
<i>Streptobacillus moniliformis</i>				✓
<i>Salmonella</i> spp.		✓		✓
<i>Salmonella choleraesuis</i>		✓		
<i>Klebsiella oxytoca</i>		✓		✓
EDIM (Mouse Rotavirus)	✓			
<i>Helicobacter</i> spp.		✓		
<i>Helicobacter hepaticus</i>		✓		
<i>Helicobacter rodentium</i>		✓		
<i>Citrobacter rodentium</i>		✓		
<i>Citrobacter freundii</i>		✓		
<i>Clostridium piliforme</i>			✓	
<i>Enterobacter cloacae</i>		✓		
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>		✓		
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		✓		
<i>Staphylococcus sciuri</i>		✓		
<i>Staphylococcus aureus</i>		✓		✓
<i>Pseudomona aeruginosa</i>		✓		
<i>Proteus mirabilis</i>		✓		
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>				✓
<i>Corynebacterium kutscheri</i>				✓
<i>Corynebacterium bovis</i>		✓		
<i>Pneumocystis murina</i>		✓		
<i>Pneumocystis carinii</i>			✓	
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	✓		✓	
<i>Trichomonas</i> spp.		✓		✓
<i>Entamoeba</i> spp.		✓		✓

Imagen suministrada por la autoría

A los diferentes laboratorios participantes se les envía, en primera instancia, una lista con la naturaleza de las muestras que recibirá y alguna información adicional que se considera necesaria para proceder de manera correcta a la hora de aplicar el método diagnóstico más acertado. Consecutivamente, se hacen llegar las muestras.

Después de un tiempo suficiente para que los laboratorios participantes analicen las muestras suministradas, éstos reciben

Control sanitario

una plantilla de "Resultados Esperados" que contiene los detalles de los agentes infecciosos contenidos en cada una de las muestras. La comparativa entre los resultados obtenidos y los esperados permite a los laboratorios participantes auto-evaluarse, lo que les puede guiar en la mejora de sus protocolos y técnicas de diagnóstico.

Durante el proceso de análisis de muestras, los laboratorios participantes pueden solicitar asistencia si se encuentran con algún problema inesperado. Cada año, al finalizar los análisis de todos los laboratorios y conocerse los resultados esperados, se envía un informe anonimizado en el que se recogen los problemas encontrados por los diferentes laboratorios participantes y los consejos recomendados por el programa.

Modalidades

Existen tres modalidades diferentes de aplicar en el programa:

1. Programa de muestras de Serología: comprende 10 muestras anuales de serología.
2. Programa de muestras de Microbiología: comprende 10 muestras anuales de microbiología, susceptibles de ser testadas por técnicas de cultivo tradicional o técnicas moleculares.
3. Programa de muestras de Serología + Microbiología: comprende 20 muestras anuales, 10 serología + 10 microbiología.

Laboratorios Principales, generación de muestras y control de calidad

Todas las muestras son generadas bajo estrictas condiciones y se caracterizan de manera rigurosa. Los agentes infecciosos son obtenidos de fuentes conocidas y se secuencian para confirmar su identidad. Los animales de experimentación son inoculados con los agentes infecciosos, y el suero y tejidos relevantes son colectados y alicuotados para ser usados como muestras estandarizadas. Estas muestras estandarizadas se evalúan por otros dos laboratorios principales (ver Tabla 2) para confirmar su calidad antes de que sean introducidas en el programa.

Tabla 2.- Lista de Laboratorios Principales.

Laboratorios Principales	Responsable
Central Institute for Experimental Animals (CIEA), Japan	Naoko Kagiyama
Charles River Laboratories (RADS), USA	William Shek
German Cancer Research Center, Germany	Katja Schmidt
QM Diagnostics, Radboud University Medical Center, The Netherlands	Wieke de Bruin
IDEXX Laboratories, USA	Matthew Myles
Cerberus Sciences, Australia	Bob Stevenson
Laboratorio de Distribución de Muestras	
Veterinary Faculty, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain	Patri Vergara

Imagen suministrada por la autoría

Los criterios generales de aceptación se basan en la pureza de las muestras. Los sueros deben ser seropositivos sólo a los patógenos inoculados previamente y la reacción debe ser de moderada a alta según los ensayos estándar. Las muestras de microbiología deben estar libres de patógenos extraños y deben ser fácilmente detectables a la concentración estandarizada.

Programa de Monitorización de Calidad Genética

En los últimos años también se ha puesto en marcha desde ICLAS un Programa de Referencia para Monitorización Genética llamado *ICLAS GEN Reference Program*. En este programa se obtienen muestras de ADN de las cepas de roedor más comúnmente usadas y se distribuyen para que las instituciones de investigación que quieran adherirse al programa comprueben si las cepas que ellos han desarrollado son representativas o no del fondo genético asumido. El funcionamiento de este programa es muy parecido al del PEP-ICLAS Program.

Oh My God ¿Son los mutantes inducidos Organismos Modificados Genéticamente?

Jesús Martínez Palacio

Titulado Superior en Prevención de Riesgos Laborales

Aprovecho hoy un artículo de Ángela Bernardo en Hypertextual para comentar la reciente “posición” del Abogado General del Tribunal de Justicia de la Unión Europea (TJUE), Michal Bobek, sobre los Organismos Modificados Genéticamente (OMG) obtenidos mediante mutagénesis

A modo de introducción

La Directiva 2001/18/CE, conocida como “Directiva OMG”, regula la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente y su comercialización en el mercado de la Unión. En particular, los organismos objeto de dicha Directiva deben ser autorizados tras la realización de una evaluación de los riesgos para el medio ambiente. También están sujetos a obligaciones de trazabilidad, etiquetado y seguimiento.

El artículo 3, apartado 1, en relación con el anexo I B, establece que la Directiva OMG no se aplicará a los organismos obtenidos mediante determinadas técnicas de modificación genética, como la mutagénesis (en un principio legal denominado, “exención de la mutagénesis”).

La mutagénesis consiste en la alteración del genoma de una especie viva. A diferencia de la transgénesis, no implica –en principio– insertar ADN extraño en un organismo vivo. Las técnicas de mutagénesis han evolucionado con el tiempo como resultado del progreso científico en el ámbito de la biotecnología.

En opinión de la *Confédération Paysanne* y otros, algunas técnicas desarrolladas recientemente (edición génica, frente a los mutágenos clásicos –químicos y radiaciones–) presentan riesgos para la salud y el medio ambiente. En consecuencia, han interpuesto un procedimiento ante este órgano jurisdiccional (Asunto C-528/16), en el marco del cual solicitan la anulación de una disposición nacional que exime a los organismos obtenidos mediante mutagénesis de las obligaciones que se aplican a los OMG.

En este contexto, se insta al Tribunal de Justicia a que aclare el alcance exacto de la Directiva OMG; en particular, el ámbito, el fundamento y los efectos de la exención de la mutagénesis y, eventualmente, que aprecie su validez. Con carácter más general, se solicita al Tribunal de Justicia que considere el factor tiempo; más concretamente, el papel que deben desempeñar el transcurso del tiempo y la evolución de los conocimientos técnicos y científicos, tanto en relación con la interpretación como con la apreciación de la validez de la normativa de la Unión, a la luz del principio de cautela.

Aunque esta “posición” no es vinculante, es probable que las decisiones judiciales que se tomen a partir de ahora tengan en cuenta este documento.

La “posición”

Los organismos desarrollados por mutagénesis, incluida la edición genómica, pueden ser considerados como organismos modificados genéticamente a la luz de la normativa europea.

En este sentido, a su juicio, sí deben ser considerados como OMG si cumplen con los criterios de la normativa, que establece como tal al “organismo, con excepción de los seres humanos, cuyo material genético haya sido modificado de una manera que no se produce naturalmente en el apareamiento ni en la recombinación natural”.

Según Michal Bobek, es preciso diferenciar la **transgénesis**, que no se menciona expresamente en la Directiva, que define como “una técnica de ingeniería genética que consiste en insertar uno o varios genes de una especie, en el genoma de otra especie”, de la **mutagénesis**, que “no implica insertar ADN extraño en un organismo vivo” pero que sí “supone una alteración del genoma de una especie viva”.

En este segundo caso, las técnicas relacionadas con mutagénesis de forma tradicional incluían la exposición a radiación ionizante o agentes químicos. Con el paso del tiempo, los científicos han logrado desarrollar métodos de mutagénesis dirigida, que no implican la introducción de ADN de otro ser vivo (como la transgénesis); mucho más específicos, gracias a la llegada de sistemas como **CRISPR-Cas9** o la utilización de las nucleasas de dedos de zinc, o nucleasas tipo activadores de la transcripción (**ZFN** y **TALEN**, por sus siglas en inglés). La normativa comunitaria establece además diversos casos de **exención de mutagénesis** en los que no se tendrían que aplicar las medidas previstas de precaución, evaluación de impacto y trazabilidad de los OMG.

Michal Bobek le quita la razón a los demandantes al afirmar que los organismos obtenidos por mutagénesis como los editados mediante CRISPR-Cas, pueden encajar dentro de dichas excepciones siempre y cuando “no entrañe el uso de moléculas de ácido nucleico recombinante ni de OMG distintos de los obtenidos con una o varias de las técnicas relacionadas en el anexo I B” (mutagénesis y fusión de células).

El Abogado General del TJUE afirma que el “mero temor al riesgo invocado con carácter vago y abstracto” no es suficiente para aplicar el principio de precaución, sino que debe haber evidencia científica al respecto.

Los demandantes además hablaban de un “riesgo de daño significativo” contra el medio ambiente y la salud humana y animal por la “acumulación de moléculas cancerígenas o de perturbadores endocrinos en las plantas cultivadas” y de “riesgo de mutaciones espontáneas o fuera del objetivo en otras partes del genoma”. El Abogado General del TJUE les quita la razón afirmando que “el conocimiento de los riesgos concretos para la salud o el medio ambiente en el presente caso es más bien limitado”.

Otro de los aspectos que comenta el Abogado General es el famoso **principio de precaución**: “La belleza está en los ojos del que mira. Parece que ocurre lo mismo con el contenido, el alcance y la aplicación potencial del principio de cautela”, critica en su dictamen. Según explica, el enfoque judicial sobre cómo debe entenderse el **principio de cautela** “ha sido mucho más restrictivo e incluso cauteloso”. “Debe existir, al menos, algún riesgo perceptible basado en la ciencia. [...] No obstante, deben existir en cualquier caso datos claros sobre los supuestos riesgos, que han de sustentarse en unos datos científicos mínimos, procedentes de un número mínimo de fuentes nacionales o internacionales distintas, fiables e independientes. El mero temor al riesgo inducido por la

novedad o de riesgo invocado con carácter vago y abstracto cuando no pueda determinarse de forma concluyente que un elemento nuevo es seguro, no son suficientes para dar lugar a la aplicación del principio de cautela”.

Sobre la posibilidad de que los estados puedan establecer normas específicas referentes a los organismos desarrollados mediante mutagénesis, incluyendo las técnicas dirigidas como CRISPR-Cas, entiende que en principio los países son libres para regular los organismos obtenidos mediante mutagénesis siempre que cumplan con las obligaciones impuestas por el Derecho europeo. “La Directiva 2001/18 no impide a los Estados miembros adoptar medidas que regulen la mutagénesis siempre que, al hacerlo, éstos respeten las obligaciones generales que se derivan del Derecho de la Unión”, señala el Abogado General del Tribunal de Justicia de la Unión Europea.

Conclusión

El TJUE dará a conocer su resolución previsiblemente en primavera de 2018.

Será un momento muy esperado, ya que es probable que este caso pueda marcar el futuro de la edición genómica en Europa, tal y como ocurrió en el pasado con los organismos genéticamente modificados.

Juristas como el alemán Tade Matthias Spranger y diversas organizaciones ecologistas apuestan por considerar los productos fruto de la edición genómica como OMG, mientras que numerosos científicos y empresarios como Arjen van Tunen, director general de la biotecnológica KeyGene, rechazan esta valoración.

Pero... ¿qué opinas tú?

Para saber más

- <http://curia.europa.eu/juris/document/document.jsf?text=&docid=198532&pageIndex=0&doclang=ES&mode=req&dir=&occ=first&part=1&cid=962571>
- <https://hipertextual.com/2018/01/crispr-cas-edicion-genomica-abogado-tjue>
- <https://hipertextual.com/2018/01/edicion-genomica-crispr-cas-2018>

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

Actualización de las actividades del laboratorio europeo de referencia en métodos alternativos (EURL ECVAM)

Beatriz Albella Rodríguez

Vocal del Órgano Encargado del Bienestar Animal y Órgano Habilitado del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT)

El pasado 1 de diciembre, el *Joint Research Centre* (JRC) hizo público en su página web el último informe del *EU Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing* (EURL ECVAM) en el que se presenta una actualización del desarrollo, validación y aceptación regulatoria de métodos alternativos a la utilización de animales en experimentación. La función del laboratorio europeo de referencia ECVAM se basa directamente en el mandato recibido por la Directiva 2010/63/EU en relación a la promoción de la filosofía de las 3Rs: Reemplazo, Reducción y Refinamiento. En dicho informe, se recogen todas las actividades que este centro de referencia en la Unión Europea, en colaboración con otras organizaciones comprometidas con el mismo objetivo, ha llevado a cabo desde la publicación de su pasado informe en noviembre de 2016.

El presente artículo no pretende ser una traducción literal de dicho informe, sino que, basándose en el mismo, se resume, actualiza y pone en contexto las que, en opinión de esta autora, son las principales actividades realizadas durante este tiempo en el EURL ECVAM.

Para la ejecución de su cometido, el EURL ECVAM, además de tener laboratorios propios, colabora con todos los organismos europeos e internacionales necesarios e implicados en su mismo entorno de actuación. Adicionalmente, dispone de 3 órganos de consulta y asesoría:

- *European Network of Laboratories for the Validation of Alternative Methods* (EU-NETVAL) es una red de laboratorios que evalúa la fiabilidad y relevancia de los estudios que se presentan en cuanto a su potencial para reemplazar, reducir o refinar el uso de animales con propósitos científicos. En la actualidad hay 37 miembros de 15 países y la última selección se cerró en septiembre de 2015. Constituyen una red de laboratorios con una gran experiencia en procedimientos *in*

vitro avanzados y sistemas de ensayo y técnicas de medidas que son consideradas importantes para los objetivos específicos del EURL ECVAM en relación a la estrategia de las 3Rs. El primer proyecto de validación en el que se implicó a esta red fue la generación de los datos experimentales en el método AR-CALUX (explicado más adelante en este artículo).

- *Preliminary Assessment of Regulatory Relevance* (PARERE) es una red trans-sectorial que aconseja al EURL ECVAM en cuanto a la visión regulatoria de la relevancia e idoneidad de los métodos alternativos propuestos para validación. Interviene en el flujo de información entre el EURL ECVAM y los cuerpos reguladores para identificar áreas que necesitan una atención específica. De esta manera, asesoran en la priorización de los ensayos propuestos para entrar en los procesos de validación.
- *ECVAM Stakeholder Forum* (ESTAF) es un foro que incluye a interlocutores no pertenecientes al ámbito de la regulación. Participan 15 organizaciones del mundo de la academia, industria, sociedad civil y del bienestar animal. Aportan sus puntos de vista en la relevancia y aplicabilidad de los métodos propuestos para validación.

ACTIVIDADES DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN MÉTODOS ALTERNATIVOS

Como se ha comentado anteriormente, el EURL ECVAM tiene instalaciones de investigación y laboratorios especializados que desarrollan sus actividades en diferentes áreas: disruptores endocrinos, desarrollo de ensayos, sistemas de selección de alto rendimiento (HTS, *High Throughput Screening*), predicción de toxicidad y protocolos de ensayo *in vitro* bajo los principios de buenas prácticas de laboratorio (GLP, *Good Laboratory Practice*).

Dentro del programa europeo Horizonte 2020, el EURL ECVAM participa en proyectos que desarrollan estrategias

alternativas al uso de animales de experimentación para la evaluación de riesgos de productos químicos desde diferentes ópticas, evalúan el progreso alcanzado en esta área e identifican vacíos que todavía necesitan investigarse. Además de los proyectos en los que participa, también desarrolla proyectos internos que intentan dar respuesta a cuestiones muy directamente implicadas siempre con el mandato que se recoge en la Directiva 2010/63/EU para este organismo.

En relación a los productos cosméticos

En marzo de 2013 entró en vigor en la Unión Europea (UE) la última fase para la eliminación progresiva de los ensayos de productos cosméticos en animales. En dicha fase se incluyen los estudios de efectos complejos en la salud humana, como la toxicidad por administraciones repetidas (incluidas la sensibilización cutánea y la carcinogenicidad), toxicidad para la función reproductora y toxicocinética. Desde entonces, los ingredientes cosméticos ensayados en animales no pueden ser comercializados en los países de la UE. Realmente, la primera prohibición de ensayos en animales fue en 2004 para productos cosméticos y en 2009 para ingredientes para cosméticos, basándose en la Directiva 76/768/EEC.

Para abordar la falta de conocimiento científico necesario para el desarrollo de métodos alternativos surgió la iniciativa *Safety Evaluation Ultimately Replacing Animal Testing* (SEURAT-1) que comenzó en enero de 2011 con una planificación a 5 años, por lo que se dio por terminado a finales de 2016. Aunque inicialmente esta iniciativa fue motivada por la industria cosmética, fue también relevante en el contexto de la regulación *Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals* (REACH), en el desarrollo de compuestos farmacéuticos y en otros sectores de la industria. SEURAT-1 fue el primer proyecto financiado por la UE que abordó el tema de las alternativas al uso de animales de experimentación para la predicción de la toxicidad sistémica en dosis repetidas.

Con una financiación de 50 millones de euros del séptimo Programa Marco Europeo (FP7), SEURAT-1 se organizó en 6 proyectos de investigación íntimamente ligados y en cooperación continua que implicaron a unos 70 grupos de investigación (algunos españoles) de universidades europeas, centros de investigación públicos e industria.

Proyectos para el ensayo de mezclas de productos químicos

El EURL ECVAM está participando también en 3 grandes proyectos de investigación iniciados recientemente en el área de

la mezcla de productos químicos en el marco de Horizonte 2020. Estos proyectos abordan la evaluación del riesgo de la exposición a mezclas de químicos desde diferentes perspectivas, para evaluar el progreso alcanzado e identificar la información que todavía falta por obtener.

EuroMix empezó en 2015 y su objetivo es desarrollar una estrategia experimental para la evaluación del riesgo de mezclas de diferentes químicos derivados de múltiples orígenes. Entre otras cosas, se están desarrollando herramientas *in silico* e *in vitro* que se están verificando por comparación con ensayos *in vivo*, enfocándose en 3 parámetros: toxicidad hepática, disrupción hormonal y toxicidad en el desarrollo. Este proyecto tiene 22 participantes, incluyendo participación española, y una cofinanciación de 8 millones de euros.

EDC-MixRisk también comenzó en 2015 y se dirige a la mejora de la evaluación del riesgo de mezclas de compuestos disruptivos para el sistema endocrino mediante la integración de la biología experimental y de la epidemiología. Se centran en mejorar la comprensión de los mecanismos que subyacen en el efecto de mezclas de compuestos químicos en 3 campos de la salud: crecimiento y metabolismo, neurodesarrollo y desarrollo sexual. Su principal objetivo es promover el uso de productos químicos más seguros en las futuras generaciones.

EU-ToxRisk se inició en enero de 2016 con 30 millones de euros financiados en el marco de Horizonte 2020 para un abordaje integral e innovador de la toxicidad y seguridad de medicamentos y productos químicos, a través de métodos más eficientes y sin animales. Pretende integrar avances en biología celular, en las llamadas tecnologías "ómicas", biología de sistemas y modelización computacional, con el objetivo de definir las complejas interacciones entre la exposición química y los efectos tóxicos que produce. El objetivo final es proporcionar una prueba de concepto para una nueva estrategia de evaluación de la seguridad de compuestos químicos, centrándose en la toxicidad sistémica por dosis repetida de tóxicos, así como la toxicidad que afecta al desarrollo y reproducción del ser humano.

Está organizado como un consorcio internacional formado por 39 organizaciones (2 de ellas españolas) que incluyen academia, pequeñas y medianas empresas, grandes industrias, CROs y administración, con una duración de 6 años y un presupuesto de 30 millones de euros financiados en el marco de Horizonte 2020. EU-ToxRisk es, de alguna manera, la continuación del proyecto SEURAT-1, del que recibió el relevo en un *workshop* auspiciado por el EURL ECVAM en noviembre de 2016.

En este proyecto hay una estrecha colaboración con Estados Unidos a través de su programa *Toxicology in the 21st Century* (Tox21), colaboración federal que incluye varios centros del país que trabajan para desarrollar métodos rápidos y eficientes para ensayar la toxicidad de compuestos químicos en el cuerpo humano. Esta colaboración se materializa a través del EURL ECVAM.

El proyecto *Science and policy for a healthy future* (HBM4EU) comenzó a finales de 2016 con la participación de 26 países. Su principal objetivo es coordinar y monitorizar los avances para suministrar mejores datos de la actual exposición de los ciudadanos a los productos químicos y sus posibles efectos en la salud, para dar apoyo a la toma de decisiones en las políticas que abordan estos temas. Este proyecto hace posible una colaboración muy novedosa entre los científicos y los asesores y directivos que trabajan con la evaluación del riesgo químico.

Proyecto VAC2VAC

En este proyecto están implicados 21 participantes procedentes tanto de entidades públicas como privadas. Incluye a expertos de la industria de la vacuna, laboratorios de control de medicamentos, instituciones académicas y organismos de investigación traslacionales. Empezó en marzo de 2016 y se centra en el uso de una aproximación consistente para el control de calidad de las vacunas tanto para uso en humanos como de uso veterinario. En la actualidad, dichos controles se hacen mediante ensayos *in vivo* y se pretende desarrollar, optimizar y evaluar métodos alternativos sin el uso de animales de experimentación. Pretenden desarrollar, optimizar y evaluar métodos fisicoquímicos e inmunoquímicos, ensayos celulares y otros métodos utilizados para ensayar la calidad, eficacia y seguridad de los lotes de vacunas.

El desarrollo del proyecto se lleva a cabo en colaboración y consultando a las agencias de regulación. Su objetivo final es desarrollar ensayos y aproximaciones que puedan llegar a ser admitidos en regulación y reducir significativamente el uso de animales en el chequeo rutinario en el proceso de producción de vacunas.

Toxicidad en medioambiente

La evaluación de la toxicidad en agua es un importante componente de cualquier evaluación de riesgo y peligro medioambiental de los productos químicos. La toxicidad acuática se determina normalmente mediante el ensayo en organismos representativos de 3 niveles tróficos: plantas (o algas),

invertebrados (crustáceos del género *Daphnia*) y vertebrados (peces). Mientras que el ensayo de toxicidad aguda acuática es un requerimiento básico en la mayoría de la legislación europea de productos químicos, la toxicidad crónica sólo se requiere en algunos casos como, por ejemplo, cuando se espera una exposición a largo plazo del producto químico en cuestión. Por otro lado, la legislación europea de protección a los animales utilizados con propósitos científicos indica que se debe de considerar toda la información disponible antes de hacer ensayos en cualquier vertebrado, incluidos los peces.

En la actualidad, la toxicidad crónica en peces se ensaya con el test *Fish Early Life-Stage* (FELS), que está aceptado por las agencias reguladoras como parte de la evaluación de riesgo ambiental de potenciales tóxicos (OECD TG 210, 2013a). Hay varios grupos de investigación trabajando en la identificación y descripción de rutas potencialmente adversas que puedan ser relevantes en la determinación de la toxicidad crónica en peces. El EURL ECVAM participa en diferentes grupos de trabajo encaminados al desarrollo de alternativas a la utilización de este tipo de prueba como, por ejemplo, el constituido hace 2 años, auspiciado por el *ILSI Health and Environmental Science Institute*. Están trabajando en recogida, control de calidad, caracterización y análisis de datos, así como en el desarrollo y aplicación de los conceptos eco-TTC que se basan en el bien establecido concepto de umbral de preocupación toxicológica (TTC, *Threshold of Toxicological Concern*), que establece un nivel de exposición a los químicos por debajo del cual no se espera un riesgo apreciable para la salud humana.

Por otra parte, el EURL ECVAM también está estudiando la posibilidad de que extrapolaciones de datos existentes interespecies, basándose en posibles relaciones que tengan en cuenta los diferentes mecanismos de acción, puedan ser científicamente útiles para abordar la toxicidad crónica en peces. De este modo, han detectado que extrapolaciones interespecies basadas en invertebrados (género *Daphnia*) podrían aportar pruebas para evitar la utilización del ensayo de toxicidad crónica en peces. También hay en desarrollo otra base de datos, iniciada en 2016, que se quiere hacer pública a lo largo de 2018 y pondrá a disposición datos de calidad sobre biotransformación *in vivo* e *in vitro*, de gran utilidad para el desarrollo de modelos de predicción.

PRESENTACIÓN DE MÉTODOS ALTERNATIVOS

Para que un método alternativo entre en el proceso de validación del EURL ECVAM, debe ser presentado cumpliendo 2 pasos. En el primero, se presenta lo que se denomina el formulario *Test Presubmission Form* (TPF). Con esta información se realiza una

evaluación preliminar del estado de desarrollo, optimización y/o validación del método y su potencial relevancia en la filosofía de las 3Rs. En el segundo paso, se presenta el denominado formulario *Test Submission Template* (TST), que recoge información más detallada sobre el método en cuestión. Posteriormente, el EURL ECVAM toma la decisión final de proponer, o no, el método para entrar en el proceso de validación y, en función de su desarrollo previo, en qué estadio de dicho proceso puede incorporarse.

Desde el último informe presentado en octubre de 2016, se han evaluado 5 nuevas propuestas de métodos alternativos que se encuentran en diversos estadios del proceso de validación. En la página web del EURL ECVAM se encuentra disponible un sistema de rastreo (TSAR, *Tracking System for Alternative methods towards Regulatory acceptance*) del progreso de los distintos métodos alternativos propuestos.

Bioelution

No es un ensayo de toxicidad. Es un ensayo de bioaccesibilidad de metales, compuestos de metales inorgánicos y materiales que contienen metales, simulando el fluido gástrico. La base de este ensayo es que la utilización de una concentración bioaccesible de un metal en una aleación parece más informativa y relevante para predecir la toxicidad que simplemente usar la concentración presente en la aleación, asumiendo que el ion metal disuelto es el causante de la toxicidad.

Después de someter este ensayo a un grupo de expertos de *European Chemicals Agency* (ECHA) y a PARERE, se consideró que podría ser interesante y tener un uso potencial en el contexto regulatorio, aunque todavía se tienen dudas sobre cómo se podría usar. Por todo ello, se ha solicitado a los proponentes información más detallada sobre este método.

Toxtracker® Assay

Este ensayo es un método *in vitro* para detectar genotoxicidad que incluye también una serie de parámetros no genotóxicos asociados con peligro de carcinogenicidad en humanos. Se propone como un ensayo adicional para evaluar la genotoxicidad de forma más precisa, proporcionando datos sobre mecanismos de genotoxicidad y reduciendo el número de falsos positivos que obligarían a confirmar los resultados *in vivo*. Proporciona datos sobre daño en ADN, estrés celular y oxidativo, y daño en proteínas.

Este método fue prevalidado y se ha considerado interesante especialmente por la posibilidad de suministrar datos sobre el mecanismo de genotoxicidad. Se ha solicitado una propuesta con

información más completa para seguir el procedimiento de una posible validación.

SENS-IS

Se trata de un método basado en la reconstrucción de piel humana para identificar posibles sustancias sensibilizantes, pudiendo discriminar entre sensibilizadores, no sensibilizadores e irritantes. Esta clasificación se obtiene del análisis de la expresión de un panel de 65 genes. Además, permite la clasificación en categorías de potencia de sensibilización en función de la concentración de producto que se necesita para inducir una respuesta positiva.

El sistema que utiliza es EpiSkin™, disponible comercialmente, que reconstruye la epidermis en 3D y se obtiene cultivando queratinocitos humanos adultos en un sustrato de colágeno que permite su diferenciación terminal y la reconstrucción de una epidermis con una capa córnea funcional. Los proponentes de este ensayo defienden que este modelo tiene en cuenta el metabolismo de la piel y los procesos de penetración del producto en la misma, por lo que se podría utilizar con pre y pro-haptenos, sólidos y líquidos. Este método ya ha sido evaluado y en la actualidad está cualificado para entrar en la fase de validación.

EDITOX

Este método se ha propuesto para estudios de riesgo de inducción de efectos secundarios adversos psiquiátricos, como la depresión y/o tendencia al suicidio. Analiza cuantitativamente las variaciones de la proporción relativa de las isoformas editadas del ARNm 32 del receptor de la serotonina (5-HT2cR), utilizando una línea celular de neuroblastoma humano (SH-SY5Y).

Teniendo en cuenta que este método se basa en un único modo de acción, no se espera que reemplace por sí solo un ensayo *in vivo* para los efectos adversos propuestos. Se ha solicitado al proponente una revisión de otros posibles modos de acción de fármacos y productos químicos con riesgo de causar depresión y/o tendencia al suicidio y los ensayos *in vitro* disponibles para estudiar esos modos de acción, centrándose en su relación con los métodos *in vivo* actualmente disponibles.

Biomarcadores γ H2AX/pH3

En este método se proponen 2 biomarcadores para detectar eventos tempranos en respuesta a daño en la molécula de ADN y discriminar daño cromosómico estructural y numérico. Un aumento en los niveles de fosforilación de γ H2AX en la serina 139

mide la captación de la maquinaria de reparación del ADN en las zonas de rotura de la doble cadena. El segundo biomarcador es la inducción de la Histona 3 (pH3) que sirve como indicador del índice mitótico y del estadio de proliferación celular.

Este ensayo está propuesto para ser utilizado en la selección temprana de moléculas candidatas antes de su entrada en el desarrollo del fármaco y para el seguimiento de resultados positivos dentro de la batería que se realiza de ensayos *in vitro* de genotoxicidad para proporcionar datos sobre mecanismos de acción. Esta propuesta de método alternativo está en la actualidad en las primeras fases de evaluación.

VALIDACIÓN DE MÉTODOS ALTERNATIVOS

Según la *Organisation for Economic Cooperation and Development* (OECD), la validación se define como el proceso por el que se establece la fiabilidad y relevancia de un proceso, método o aproximación particular con un propósito definido. Dado que durante este proceso se genera información empírica sobre un método en condiciones estandarizadas y controladas, se puede llegar a aceptar para facilitar y/o acelerar la aceptación regulatoria de métodos alternativos. El EURL-ECVAM tiene un proceso de validación modular, en módulos independientes, en los que se puede utilizar también estudios prospectivos, retrospectivos o una combinación de ambos. Si el proceso de validación concluye con éxito, puede evolucionar hacia su aceptación regulatoria mediante la admisión formal del método por las autoridades correspondientes.

En este contexto, la principal función del Comité Científico Asesor (ESAC, *Scientific Advisory Committee*) del EURL ECVAM es proporcionar revisiones independientes de los estudios de validación de métodos alternativos y evaluar su validez científica para un determinado propósito. Normalmente, lo hacen a través de grupos de trabajo que, una vez finalizada la revisión, plasman sus consejos en un informe final. Este comité se renueva periódicamente y, en diciembre de 2016, se abrió el último proceso de renovación que todavía no ha finalizado. Se presentaron 25 candidatos y se espera que en breve se anuncien oficialmente los 9 seleccionados.

Lo últimos métodos alternativos revisados por el ESAC en vigor en 2016, junto con sus estudios de validación, han sido Ocular Irritation[®], SkinEthic[™] HCE EIT, U-SENS[™], LuSens y epiCS[®] SIT. Las revisiones del ESAC están disponibles en la web del EURL ECVAM. También se ayudan de EU-NETVAL para la validación de los estudios evaluando su fiabilidad y relevancia como método

alternativo con potencial para reemplazar, reducir o refinar el uso de animales con propósitos científicos.

A continuación se recogen otros métodos que están en sus últimas fases del proceso de validación.

Disruptores endocrinos

Es bien conocida la preocupación global que existe sobre las sustancias, naturales o artificiales, que tengan potencial para interferir con el sistema endocrino. Esto también se refleja en la preocupación por el desarrollo de métodos alternativos. En la actualidad, hay 2 métodos en este proceso.

Uno de los métodos es el AR-CALUX que propone la utilización de una línea celular de osteosarcoma (U2-OS) transfectada con ADNc del receptor andrógeno humano pSG5-neo-hAR y un gen "chivato" de expresión de luciferasa. Este método suministra información sobre la actividad androgénica de una sustancia cuando estas células son expuestas a la misma y se propone como un método de cribado.

El EURL ECVAM ha realizado una evaluación experimental del método llevando a cabo un estudio en condiciones GLP para refinar el ensayo y establecer los criterios para su transferibilidad, proporcionando entrenamiento a los laboratorios participantes y coordinando todas las fases de la validación. La fase de transferencia del método a cada uno de los laboratorios participantes ha concluido con éxito. En la actualidad están en marcha las fases de reproducibilidad inter-laboratorios y la de determinación de la capacidad predictiva del ensayo.

En el hombre, el principal papel del tiroides en el sistema endocrino es regular el metabolismo a través de la hormona tiroidea, extrayendo yodo de la sangre e incorporándolo en esta hormona. A través de ella se regulan procesos vitales como la respiración, el ritmo cardíaco, el sistema nervioso central y periférico, la fuerza muscular, etc. Algunos productos químicos artificiales tienen el potencial de interferir con la función de la hormona tiroidea y otras hormonas relacionadas pudiendo llegar a causar efectos adversos para la salud en humanos y en otros organismos. El EURL ECVAM ha identificado 17 ensayos *in vitro* como candidatos a ser validados. Una vez estudiada toda la información existente, se ha seleccionado un grupo de ensayos que cubren los 8 bloques identificados como dianas de los disruptores del tiroides (excepto los cambios epigenéticos), que se describen en una revisión de la OECD - ENV/JM//MONO(2014)23- y que serán objeto de un estudio

coordinado de validación. Este estudio se llevará a cabo en colaboración con EU-NETVAL.

Sensibilizadores cutáneos

El ensayo *Genomic Allergen Detection* (GARD) se basa en la expresión de transcritos de ARNm para un panel de más de 200 genes en células MUTZ-3 (línea celular mielóide), que cubren la reacción inmune al completo y son relevantes para predecir el riesgo de producir hipersensibilidad. Se propone para discriminar productos químicos que sean, o no, sensibilizadores cutáneos. Fue inicialmente propuesto para validación en 2013 pero se solicitaron modificaciones en relación al modelo de predicción. Se volvió a proponer para su validación en 2015 y, tras cubrir los pasos necesarios, en la actualidad está en proceso de validación bajo el paraguas de la OECD. El método ha sido recientemente desarrollado para describir las 3 potencias sensibilizadoras recogidas en la regulación *European Classification, Labelling and Packaging* (CLP): 1A (fuerte), 1B (débil) y sin categoría (no sensibilizador). Utilizando una aproximación randomizada y 70 muestras, se ha identificado una firma de 52 transcritos con potencial biomarcador para este propósito.

La empresa promotora de esta validación, SenzaGen (Lund, Suecia), hizo público el 12 de enero de este año que había presentado ya los resultados finales al EURL ECVAM. Estos resultados muestran, en los 3 laboratorios participantes, un poder de predicción sin precedentes del 93,8% para determinar si una sustancia química tiene riesgo de producir alergia. Esperan que el EURL ECVAM y la OECD aprueben y recomienden su uso en regulación en abril de 2019.

Genotoxicidad

La piel es el primer lugar de contacto con muchos compuestos, además de los productos de higiene personal y de cosmética. Normalmente, hay preferencia por el desarrollo de métodos que usan modelos en 3D de piel y una ruta de exposición representativa, que son considerados más relevantes que los que utilizan líneas celulares. *Cosmetics Europe* y la EURL ECVAM han promovido un proyecto con múltiples laboratorios para desarrollar y validar ensayos de genotoxicidad utilizando modelos de piel humana en 3D. Como parámetros de genotoxicidad se han utilizado la formación de cometas y micronúcleos por su aplicabilidad en células epidermales y el amplio espectro de daño en ADN que cubren. Las fases experimentales de los estudios de validación han finalizado y se presentaron los resultados en abril de 2017. Ha habido acuerdo en que los resultados obtenidos con ambos parámetros son

prometedores pero que no pueden ser utilizados como único método, sino que deberían formar parte de una estrategia de ensayos alternativos para la genotoxicidad.

Otro ensayo que está en sus últimas fases de validación es la inducción de micronúcleos en huevo de gallina incubado (HET-MN, *Hen's Egg Test for micronucleus induction*). Este ensayo combina el ampliamente aceptado ensayo de "formación de micronúcleos" con el complejo modelo de huevos de gallina incubados. Este modelo está bien caracterizado y permite la activación metabólica, eliminación y excreción de xenobióticos, incluyendo aquellos que son mutágenos o promutágenos, por lo que no es necesaria la adición de S9 al ensayo.

DIFUSIÓN DE LA INFORMACIÓN SOBRE MÉTODOS ALTERNATIVOS

Es bien reconocida la necesidad de que la información sobre los métodos alternativos esté disponible para todos los colectivos interesados, no sólo para aquellos que los puedan utilizar, sino también para aquellos que intervengan en la evaluación de proyectos para su conformidad con el principio de las 3Rs en el marco de la Directiva Europea 2010/63/EU. En este contexto, el EURL ECVAM tiene disponibles en su página web varios servicios de bases de datos:

- *DataBase service on ALternative Methods to animal experimentation* (DB-ALM-EURL). Proporciona información estandarizada sobre el estado de desarrollo y aplicación de los métodos alternativos. Se centra principalmente en métodos *in vitro* y aproximaciones no experimentales para utilizar en evaluaciones de seguridad de productos químicos y sus formulaciones. Aparece referenciada en los documentos oficiales de la OECD y en publicaciones científicas. Además es recomendada por la ECHA.
- *QSAR Model Database*. Es una aplicación de libre acceso que permite enviar, publicar y buscar resúmenes de descripciones, previamente evaluadas, sobre modelos *Quantitative structure-activity relationship* (QSAR).
- *TSAR (Tracking System for Alternative Test Methods towards Regulatory acceptance)*. Proporciona una mayor visibilidad del progreso de los métodos alternativos desde su propuesta para validación hasta su eventual aceptación por las autoridades regulatorias. Participa no sólo el EURL ECVAM sino también todos los miembros del *International Cooperation on Alternative Test Methods* (ICATM).
- *EURL ECVAM Search Guide*. Desarrollada para informar y ayudar a los usuarios no experimentados de bases de datos a

encontrar información de calidad sobre métodos alternativos relevantes para ellos.

- EURL ECVAM *Genotoxicity and Carcinogenicity Database of Ames Positive Chemicals*. Proporciona información, de forma estructurada y muy depurada, de 726 productos químicos positivos para el test de Ames (ensayo biológico para evaluar el potencial mutagénico).
- EURL ECVAM *Skin Sensitisation Database*. Ofrece información de 269 productos químicos orgánicos con su correspondiente dato de sensibilización.
- *Chemical Lists Information System (CheLIST)*. Proporciona información para identificar si un producto químico ha sido testado en algún proyecto de investigación europeo o internacional y si aparece en algún inventario regulatorio.
- ChemAgora. Es un portal de información química que facilita datos sobre productos químicos obtenidos de una serie de repositorios públicos con acceso a otras bases de datos en las que se puede ampliar la información obtenida.
- *Endocrine Active Substances Information System (EASIS)*. Es una aplicación en web abierta al público para buscar resultados de estudios científicos de productos químicos que pueden tener efecto en la actividad endocrina en su posible papel de disruptores endocrinos.

Todas estas herramientas han demostrado su utilidad por su gran acogida, medida tanto por su alto número de usuarios como, en algún caso, su recomendación por organismos regulatorios. Además de estas bases de datos y aplicaciones, el EURL ECVAM realiza toda una serie de actividades en cuanto a monitoreo del conocimiento del principio de las 3Rs por parte de la población, formación en evaluación de riesgos utilizando aproximaciones alternativas y difusión entre los investigadores.

COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MÉTODOS ALTERNATIVOS

Para asegurar que los métodos alternativos lleguen a ser aceptados por los organismos y agencias reguladoras a nivel internacional es absolutamente necesario trabajar en estrecha colaboración con las mismas. En este contexto, en octubre de 2016, el EURL ECVAM celebró un *workshop* con ICATM al que asistieron representantes de 20 autoridades reguladoras no sólo de la UE sino también de Estados Unidos, Canadá, Japón, Corea del Sur, Brasil y China. Inicialmente, se han centrado en los requerimientos de regulación necesarios para los estudios de sensibilización cutánea en diferentes aspectos del sector químico en los que podrían usarse aproximaciones sin el uso de animales de experimentación.

Como en otras ocasiones, el EURL ECVAM ha participado en seminarios internacionales para abordar diferentes temas relacionados con los métodos alternativos. Durante 2016 y en colaboración con el *National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS)* de la oficina de seguridad química australiana, se organizaron una serie de seminarios sobre aproximaciones alternativas para abordar la toxicidad sistémica que incluyeron temas como la sensibilización cutánea, ensayo de genotoxicidad, fiabilidad y relevancia de los métodos alternativos, disruptores endocrinos, etc.

El EURL ECVAM participa además como observador en la red de evaluación de riesgo químico de la Organización Mundial de la Salud (*World Health Organisation Chemical Risk Assessment Network*) y contribuye en la red de coordinación de grupos que trabajan en los modos de acción y exposiciones combinadas.

BIBLIOGRAFÍA

- EURL ECVAM Status Report on the Development, Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Methods and Approaches (2017) <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC108831>
- Página web del EURL ECVAM: <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/>
- Proyecto EuroMix: <https://www.euromixproject.eu/>
- Proyecto EDC-MixRisk: <http://edcmixrisk.ki.se/>
- Proyecto EU-ToxRisk: <http://www.eu-toxrisk.eu/>
- Proyecto HBM4EU: <https://www.hbm4eu.eu/>
- Proyecto VAC2VAC: <http://www.vac2vac.eu/>
- Sistema de rastreo del proceso de validación: <https://tsar.jrc.ec.europa.eu/>



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

Intubación endotraqueal a ciegas en conejos

Neus Morera Celda

Consultora y asesora en medicina y cirugía de exóticos freelance

INTRODUCCIÓN

La anatomía de la boca del conejo no permite visualizar la laringe directamente, por lo que en esta especie la intubación se realiza de forma visual con la ayuda de un laringoscopio de hoja pequeña, de un endoscopio rígido, o bien a ciegas. En este trabajo se va a describir la técnica de intubación a ciegas en el conejo.

La intubación endotraqueal tiene como objetivo colocar en la tráquea un tubo que permita el paso de aire, gases anestésicos, o sondas hacia el sistema respiratorio inferior. Esta técnica resulta imprescindible en procedimientos diagnósticos como el lavado broncoalveolar o la toma de imágenes (TAC, radiografía y RMN) con el pulmón lleno, pero además es de gran ayuda en procedimientos quirúrgicos largos para el mantenimiento de la anestesia. En caso de utilizar un protocolo anestésico inyectable, la intubación endotraqueal facilita la administración de oxígeno. Si por el contrario, el protocolo anestésico es mediante anestesia inhalatoria, permite la administración de gas anestésico y reduce las pérdidas de gases hacia la habitación, lo que resulta en una menor exposición del personal a los mismos, facilita la realización de intervenciones en la cabeza y permite la ventilación forzada en caso de apnea por un plano anestésico demasiado superficial o demasiado profundo.

MATERIAL NECESARIO

- Tubos endotraqueales transparentes de diferentes tamaños, según el peso del conejo, con o sin balón. El balón permite sellar la tráquea y minimizar la salida de gases, pero dificulta la colocación a ciegas del tubo especialmente en los animales más pequeños ya que le añade un diámetro extra. Los tubos más pequeños, del número 2, no suelen llevar balón. La recomendación es (ver Tabla 1):

Tabla 1.- Tubos endotraqueales según el peso del animal.

TUBO Nº	PESO CONEJO
2	1 a 2-2,5 kg
2,5	2 a 4 kg
3	> 4 kg

- Lubricante hidrófilo.
- Lidocaína inyectable.
- Venda para sujetar el tubo una vez colocado.

PROCEDIMIENTO

Preparación prequirúrgica

Para poder realizar este procedimiento es necesario aplicar, previamente, al animal una inducción anestésica, aunque el reflejo laríngeo esté parcialmente conservado. En este caso se administra una dosis por vía intramuscular de medetomidina (0,05-0,1 mg/kg), ketamina (8-10 mg/kg) y butorfanol (0,5 mg/kg/sc, im).

Técnica

1. Se coloca el conejo en decúbito esternal, se sujeta la cabeza con los dedos en la zona masetera (ver Figura 1) y se le saca la lengua (se puede mantener estirada con un dedo; ver Figura 2).

Figura 1.- Posición del conejo en decúbito esternal, con la cabeza sujeta por la zona de los maseteros.

Imagen suministrada por la autoría





Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Extracción y sujeción de la lengua, mientras se abre la boca y sin dejar de sujetar la cabeza.

2. Se aplica 0,05-0,1 ml de lidocaína inyectable en la zona de la glotis. Para ello se introduce en dirección a la laringe una jeringa de insulina (sin aguja) y se aprieta el émbolo cuando se estima que está delante de la glotis (ver Figura 3). También se puede depositar la lidocaína en el tubo endotraqueal, para lo que se introduce en dirección a la glotis y se sopla por el otro extremo.

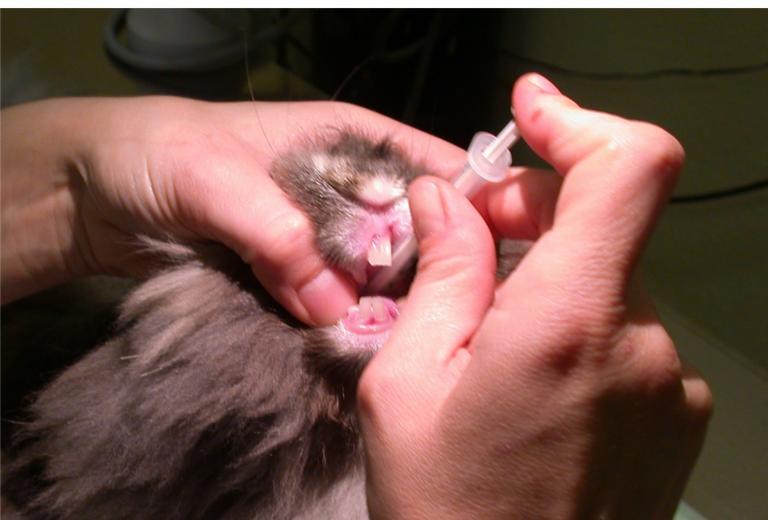


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Aplicación de la lidocaína en la zona de la glotis mediante una jeringuilla de insulina (sin aguja).

3. Tras esperar unos segundos para que la lidocaína haga efecto, se introduce el tubo lubricado con lubricante hidrófilo en dirección a la glotis (ver Figura 4).

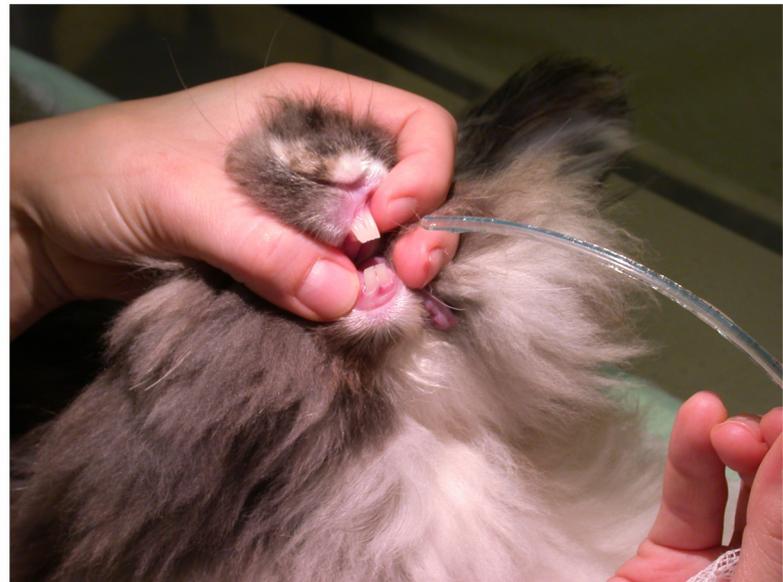


Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Introducción del tubo lubricado.

4. Cuando se haya avanzado hasta el final de la cavidad oral se puede guiar la intubación de dos maneras:
 - a) Escuchando por el extremo del tubo se puede notar el aire a su paso por la glotis. Si no se percibe el aire, la posición del tubo no es la correcta y hay que recolocar.
 - b) Observando la aparición de vaho dentro del tubo en cada espiración (ver Figura 5). Si no se observa nada, recolocar el tubo dentro de la cavidad oral y volver a intentar.

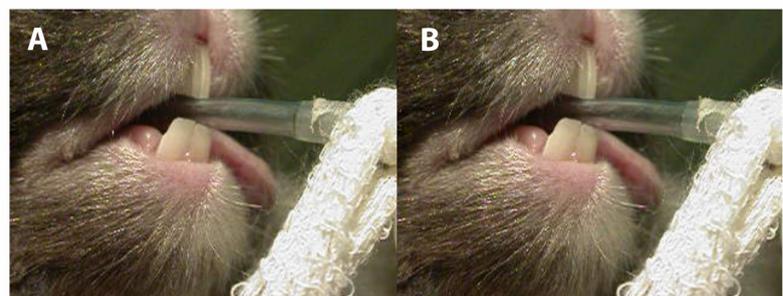


Imagen suministrada por la autoría

Figura 5.- Observación de la salida (A) y ausencia (B) de vaho a través del tubo, correspondientes a la espiración y a la inspiración respectivamente.

5. Mientras se introduce el tubo, la cabeza del conejo puede dejarse en posición más o menos fisiológica o colocar en hiperextensión para dirigir el tubo hacia la tráquea en vez del esófago (Figura 6).

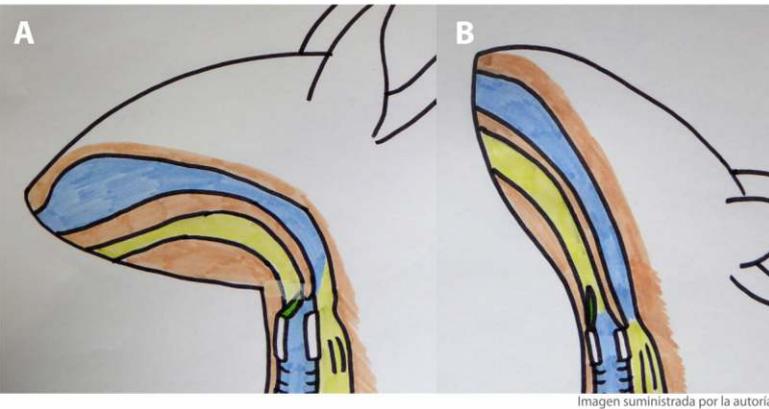


Figura 6.-Esquema de la cavidad oral de un conejo. **A.** En posición fisiológica la cavidad oral continúa con el esófago (amarillo), mientras que la epiglotis (verde), cubre la entrada de la tráquea (azul). **B.** Si se extiende la cabeza, la cavidad oral se alinea con la tráquea y es más fácil dirigir el tubo hacia la misma. Nótese en la Figura 6A cómo el velo del paladar se coloca caudal a la epiglotis; cuando se sitúa rostralmente a la epiglotis, el tubo no pasa.

6. En el momento de la inspiración se avanza el tubo hacia adentro. A veces, si no se ha abolido el reflejo laríngeo del todo, puede producirse una ligera tos.
7. Además de la tos, se puede confirmar la correcta posición del tubo observando los movimientos del balón de reserva, colocando pelo en la salida del tubo y observando cómo se mueve con la espiración o poniendo un capnógrafo.
8. En ese momento se fija el tubo con una venda a la cabeza.

Problemas que pueden surgir:

- a) Aunque el tubo se haya colocado a la entrada de la glotis (se escuchan ruidos o se ve vaho), en el momento de avanzar hay algo que lo impide. Puede ser porque el tubo es demasiado grande, o tiene un balón que aumenta demasiado su diámetro externo, aunque también puede pasar porque el velo del paladar se haya colocado por delante de la glotis (en este caso muy poco frecuente, se escucha un ronquido cuando respira el conejo). En el primer caso, hay que intentar colocar un tubo más pequeño o bien usar un laringoscopio o un endoscopio. En

el segundo caso, a veces masajeando la parte ventral del cuello y tirando suavemente de la lengua el animal hace el gesto de deglutir y se “desbloquea” el velo del paladar; si esto no funciona hay que intubar visualizando la glotis para apartar el velo del paladar.

- b) Aunque el animal parece estar correctamente intubado, la ventilación no es buena, parece que le cueste inspirar o no acaba de alcanzar un plano anestésico adecuado. Puede que se haya intubado un bronquio. Esto suele ocurrir con los conejos más pequeños ya que el tubo del número 2 (el más pequeño) puede ser más largo que su tráquea; en estos casos conviene recortarlo (siempre por el extremo que se conecta al aparato de anestesia).
- c) Si se maneja el tubo de manera brusca o forzada se puede dañar la glotis provocando un edema.

VENTAJAS Y DESVENTAJAS

Por un lado, la intubación permite una administración de anestesia inhalatoria más cómoda y segura, tanto para el animal como para el personal. La intubación a ciegas no implica el uso de material adicional o costoso, por lo que cualquier experimentador la puede realizar.

Por otro lado, la intubación requiere un entrenamiento previo en la técnica ya que pueden surgir problemas como los descritos anteriormente. No se puede aplicar en todos los conejos, por ejemplo los de menor tamaño requieren un tratamiento más delicado y específico.

CONCLUSIÓN

La intubación endotraqueal a ciegas en conejos es una técnica que, una vez adquirida la destreza necesaria, es muy sencilla, no implica el uso de instrumental especial y es aplicable a numerosas especies.

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

Un nuevo riesgo identificado con el uso de desinfectantes

Un estudio presentado en el Congreso Internacional de la European Respiratory Society en noviembre de 2017 (Italia) relaciona el uso regular de desinfectantes (común en nuestros animalarios) con un mayor riesgo de Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC).

Jesús Martínez Palacio
Titulado Superior en Prevención de Riesgos Laborales

En el citado congreso, la Doctora Oriane Dumas del Instituto Nacional de Salud e Investigación Médica de Francia (INSERM) señalaba que el uso de lejía y otros desinfectantes comunes una vez a la semana podría aumentar el riesgo de desarrollar EPOC entre un 22-32%, según investigaciones realizadas en Estados Unidos y Francia.

Un estudio de seguimiento de 30 años realizado por científicos de la Universidad de Harvard y el INSERM analizó la incidencia de la enfermedad en más de 55.000 enfermeras en los Estados Unidos, e identificó un vínculo entre el uso de lejía y desinfectantes y una mayor incidencia de EPOC. Algunas de las tareas que involucraban la exposición frecuente a desinfectantes, tales como la limpieza de superficies y la presencia de ciertos productos químicos específicos en desinfectantes (amonios cuaternarios), se asociaron con un 22-32% más de riesgo de desarrollar EPOC.

Los autores del informe mencionaron que la EPOC es una enfermedad creciente en todo el mundo. "Se ha convertido en un importante problema relacionado con el trabajo, pero a menudo no es bien identificado y, por lo tanto, está sub-diagnosticado".

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica se asocia con agentes de exposición ocupacional específicos, incluyendo polvo de minas de carbón, amianto, sílice, humos de soldadura y corte, polvo de cemento, humos diésel, pintura en aerosol, disolventes orgánicos y posiblemente fibras artificiales.

El uso de desinfectantes se ha asociado previamente con un mayor riesgo de problemas respiratorios como el asma. Sin embargo, se cree que el nuevo estudio es el primero en identificar un vínculo entre la EPOC y los productos químicos de limpieza conocidos como compuestos de amonio cuaternario.

"Los efectos adversos potenciales de la exposición a los desinfectantes en la EPOC han recibido mucha menos atención, aunque dos estudios recientes en poblaciones europeas mostraron que el trabajo como limpiador se asoció con un mayor riesgo de EPOC", dijo Oriane Dumas, investigadora del INSERM.

Los investigadores analizaron los datos de un estudio masivo de personal de enfermería en los Estados Unidos (55.185 participantes), realizado por la Universidad de Harvard en 1989. En 2009, los investigadores observaron a los que seguían trabajando como enfermeros que no tenían antecedentes de EPOC y los siguieron hasta mayo de 2017. Durante ese período, 663 fueron diagnosticados de EPOC.

Se evaluó la exposición de las enfermeras a través de un cuestionario y se tomó en cuenta la edad, el índice de masa corporal y la etnia de los sujetos, lo que podría haber distorsionado los resultados.

El uso de muchos de los desinfectantes considerados no tiene recomendaciones específicas de salud. INSERM dice que los hallazgos del informe ponen de relieve la necesidad de directrices para la limpieza y desinfección en entornos de atención médica como hospitales con objeto de actualizar y tener en cuenta riesgos de salud ocupacional.

En nuestro entorno laboral, pese a ser todavía común, el uso de agentes como los mencionados (lejías y compuestos de amonio cuaternario) en la limpieza de superficies de trabajo se va reduciendo: las lejías, por el daño que hacen a

las superficies y su reactividad con otros compuestos, además de la liberación de cloraminas que son bien conocidas como irritantes respiratorios; y los productos de amonio cuaternario por ser sensibilizantes e irritantes cutáneos y pulmonares.

No obstante, han sido y serán comunes en muchos productos de limpieza y desinfección en animalarios y convendría, a quien los utilice, revisar las hojas de seguridad para ver los consejos de uso y las medidas de protección personal que indican los fabricantes.

BIBLIOGRAFÍA

- <https://erscongress.org/about-ers-2017/media-centre-2017/press-releases/121-press-releases/530-dumas-copd-disinfectants.html>



PUBLIQUE SUS
ARTÍCULOS EN
NUESTRA REVISTA.
CONTÁCTENOS

publicidad.revista@secal.es



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

ANÁLISIS DE AGUAS

Pídelo, que nosotros
nos encargamos de todo.



Realiza la solicitud
por teléfono, email o
en nuestra web.



En 24h recibirás un kit
con instrucciones con el
que enviarnos tus
muestras sin coste.



Las recogemos,
las analizamos y
tendrás los resultados
en tu correo.

fácil, rápido, fiable

PRIMER ANÁLISIS GRATUITO*

T 948 40 26 28 / info@vuler.es / www.vuler.es

*Consulta condiciones en nuestra web.

CUIDADO AL CUIDADO



Aprendiendo a enseñar

Davinia Hernández

Técnico de animalario, Universidad Rey Juan Carlos

Hola secaleros, me presento: soy Davinia y trabajo como técnico de animalario en la Universidad Rey Juan Carlos. Ya participé en esta sección hablando de cómo cuidábamos de la investigación. En esta ocasión, voy a hacerlo acerca de nuestro trabajo dentro de la Universidad y sobre la transmisión del conocimiento, que en nuestro caso es mediante la instrucción de los alumnos de Formación Profesional.

Cuando los alumnos llegan por primera vez a nuestro centro de experimentación animal, nos gusta saber qué es lo que esperan aprender ya que es importante ponerse en su situación. Todavía recuerdo la expectación que sentí cuando empecé a trabajar en el Centro de Experimentación Animal (CEA) de Alcalá de Henares; por este motivo, nos gusta que los alumnos que pasan por nuestro centro salgan tan formados como motivados y se lleven una grata experiencia, como fue mi caso. En mi opinión, lo importante en este período de prácticas (así como durante el resto de vida laboral) es mantener la motivación.

Lo primero que les enseñamos es a realizar rutinas de trabajo, como es el cambio de cubetas de animales de las distintas especies que estabulamos en el centro. Se valora, especialmente, trabajar de forma ordenada, limpia y tranquila; saber preparar el material de trabajo (cubetas, biberones y pienso); y por supuesto, llevar correctamente guantes, mascarilla y gorro. Durante la formación, hacemos énfasis en la manipulación del animal y en la observación de su estado físico y comportamiento. Hay que abastecerles de agua, comida y apuntar en las tarjetas de identificación cualquier incidencia que se observe. Al terminar, hace falta una limpieza de la sala de estabulación para, posteriormente, enseñarles las peculiaridades de cada zona del animalario.

En la sala de producción de ratas Wistar, les formamos en la gestión de cruces, mirar tapones vaginales, sexado de animales,

así como la necesidad de poner enriquecimiento ambiental y material de nido a las hembras gestantes. Aquí los alumnos disfrutaron mucho con los animales recién nacidos, y ver su desarrollo hasta el día del destete, les llama la atención. También les instruimos en colonias de transgénicos, inculcando lo fundamental que es llevar un orden en el cambio de cubetas (ver Figura 1). La correcta identificación durante la realización de los destetes es clave para evitar el cruce de unas colonias con otras. Apuntamos todos los datos que identifican correctamente al animal en la tarjeta del nuevo destete, que serán facilitados al responsable del animalario para darlos de alta en el programa de gestión de animalarios que usamos.



Imagen suministrada por la autora

Figura 1.- Alumno de Formación Profesional cambiando cubetas de una colonia de ratones transgénicos.

Finalmente, les enseñamos a trabajar también en la zona de cuarentena, el trabajo bajo campana y a usar la vestimenta apropiada. Es muy importante conocer que la contención del material contaminado se realiza mediante bolsas de autoclave selladas, que después serán autoclavadas y limpiadas para volver a esterilizarse. Este proceso se realiza en la zona de lavado, donde aprenden a manejar el autoclave, lava-cubetas, lava-biberones, y el uso de los Equipos de Protección Individual (EPIs) para protegerse (ver Figura 2).



Imagen suministrada por la autora

Figura 2.- EPIs necesarios en la zona de lavado.

Se les muestra la forma de trabajo en la Zona SPF (*Specific Pathogen Free*), donde todo el material que se usa pasa por autoclave o través del SAS, mediante exposición a peróxido de hidrógeno o por medio de luz ultravioleta. El agua de bebida proviene de un equipo de filtración provisto de luz germicida. La vestimenta de esta zona consiste en monos *tyvek* previamente esterilizados y zapatos específicos para la zona. La desinfección de las salas de estabulación al quedar vacías, se efectúa mediante la limpieza de paredes con productos fungicidas y bactericidas, antes de proceder a la fumigación de la sala con peróxido de hidrógeno (sin olvidarnos del uso de los EPIs).

Una vez que han adquirido destreza para realizar estas tareas –siempre bajo supervisión de los técnicos que trabajamos aquí y del responsable del animalario–, el paso siguiente es adiestrarlos en el manejo y manipulación de los animales para la realización de procedimientos. Comentan que tienen sentimientos encontrados, puesto que les gusta verse realizando cosas más vistosas pero sienten pena por el animal, dando lugar a manipulaciones inadecuadas.

Para que esto no suponga un problema de estrés añadido en el animal o sufran más daño del necesario, les aconsejamos que deben estar tranquilos, en un ambiente a ser posible silencioso. Lo más importante es tener seguridad en uno mismo y seguir las indicaciones del instructor, que les mostrará una inmovilización segura para el animal (ver Figura 3) y para la seguridad del manipulador.



Imagen suministrada por la autora

Figura 3.- Práctica de manipulación de una rata.

En algunos casos, se recurre al uso de modelos artificiales (ver Figura 4) para que practiquen. También se les adiestra en la realización de necropsias, extracción de órganos..., una vez los animales han sido sacrificados por el personal cualificado del animalario.



Imagen suministrada por la autora

Figura 4.- Modelo artificial.

Para ver su estado de motivación, se les pregunta sobre lo que están aprendiendo: qué es lo que más les gusta, lo que menos... la mayoría responde que lo que más les gusta es el trabajo directo con el animal. Aprovechando que estamos en un ambiente universitario y una vez terminadas las rutinas de trabajo diarias (previo acuerdo con el responsable del animalario y los investigadores con los que trabajamos), como incentivo se proponen visitas a los distintos departamentos que trabajan con nosotros para ver los experimentos que allí se realizan y conocer la finalidad de dichas investigaciones. Poder visitar todas las instalaciones que poseemos en la Universidad les resulta enriquecedor y les facilita la visión de los distintos campos de investigación que hay, y esto les ayuda en la toma de decisión sobre qué estudiar o trabajar.

Aparte de realizar visitas a los departamentos, siempre que sea posible pueden ver en nuestro propio animalario los distintos

experimentos que allí se realizan. El poder trabajar mano a mano con un investigador resulta ser una mejor experiencia. Escuchar propuestas o inquietudes de los alumnos es importante y serán complacidas en la medida de lo posible.

Tras su paso por nuestras instalaciones, como recompensa a su esfuerzo e interés, a algunos se les ha podido ofrecer la oportunidad de realizar los cursos de formación correspondientes a la categoría A y B de forma gratuita, algo que ellos agradecen y saben valorar. Con todo esto, esperamos que adquieran un concepto general de lo que es el trabajo en este tipo de instalaciones, así como su propósito y por supuesto, lo más importante, que salgan bien formados y preparados para el mundo laboral.

Quisiera dar las gracias al director del CEA de Alcalá de Henares, José María Orellana, y a su equipo de técnicos, Montse, Ángel y Mariano, que me enseñaron a dar mis primeros pasos en este mundo. A mi anterior jefa en la Universidad Rey Juan Carlos, Elena Hevia, y a mi compañera Patricia, por darme la oportunidad de poder aprender cosas nuevas con ellas. A mi actual jefe, Sergio Ferreiro, por seguir confiando en mí. Y por supuesto, no me olvido de mis compañeros, Alejandro y Eduardo, a los que pude formar y con los que también aprendí a enseñar (ver Figura 5).



Imagen suministrada por la autora

Figura 5.- Davinia con sus compañeros.

Tesoreros actuales de la Junta de Gobierno de la SECAL



David Muñoz ¹ y Viviana Bisbal ²

¹ Director del Gabinete Veterinario de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) y tesorero de la SECAL

² Veterinaria Responsable del animalario del Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF). Veterinaria Designada del Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC). Profesora asociada de anestesiología en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Cardenal Herrera-CEU (UCH-CEU) y vicetesorera de la SECAL

¿Desde cuándo sois socios de SECAL y qué opinión os deja nuestro colectivo?

David Muñoz (DM): Soy socio desde 2007, pero llevo respirando SECAL desde mi primer contacto con el animal de laboratorio, en el 2000. Aún recuerdo mañanas con mis compañeros, en el despacho de Carmina (perdón, la secretaria de la SECAL), pegando las direcciones en los sobres para enviar las revistas. La ilusión que siempre me ha transmitido Carmina por esta Sociedad caló hondo.

Viviana Bisbal (VB): Me presenté a una plaza de técnico de animalario en 2007 y a los pocos meses me hice socia. En el mundo veterinario nuestro colectivo es el gran desconocido aunque es cierto que en los últimos años hemos ganado visibilidad. Quizá seamos “los raritos”, pero he de decir que la diversidad de nuestra especialidad y la maravillosa actitud de colaboración e inquietud por mejorar que se respira, creo que nos convierte en un colectivo envidiable.

¿Cuál es vuestra experiencia en el mundo del animal de laboratorio?

DM: Entré en el animalario de la Facultad de Medicina de la UAM recién licenciado, sin saber nada de este mundo. Carmina me dijo: “el animal de laboratorio, o te engancha o sales corriendo”, y aquí estoy, un *yonki* más... Estuve trabajando muchos (13) años como técnico y cuidador, y durante ese tiempo me fui formando como Responsable en Bienestar gracias al empuje y los consejos de la gente que me rodeaba. Y, posiblemente, pasé una de las mejores épocas de mi vida profesional, aprendiendo y conociendo a gente increíble. Gracias a esos consejos, a esa gente y a ese esfuerzo pude dar el paso para estar donde, actualmente, estoy.

VB: Mi actividad profesional se inició, como la mayoría de los veterinarios, en el mundo de la clínica. Buscaba definir la especialidad en la que quería progresar y mientras la anestesiología llamaba a mi puerta, se cruzó una plaza de técnico de animalario en el CIPF, y pensé: “¿Por qué no?” Una vez dentro, la especialidad me cautivó y aquí sigo, pero sin olvidarme de la anestesia, por supuesto.

Mi actividad con el animal de laboratorio ha pasado por varias fases. He sido técnico actuando de técnico, técnico actuando de veterinario, técnico actuando de cuidador, veterinario actuando de cuidador... fases por las que muchos de nosotros hemos pasado. Tras una complicada época en la que el CIPF se vio

afectado por un ERE, en el que aún seguimos, y que nos dejó a mi compañera Amparo y a mí solas ante todos los quehaceres del animalario, la situación del servicio resurgió y ahora somos un maravilloso equipo de 4 personas en el que, aunque cada uno tenga su papel principal, funcionamos todos muy cohesionados.

Un periodo que recuerdo con especial cariño es el periodo del Máster para obtener la antigua categoría D en el que, además de formarnos en diferentes ámbitos, creo que todos los que hemos asistido hemos hecho grandes amigos. Sin olvidarme de mis compañeros de laboratorio en mi época predoctoral. Una época de aprendizaje investigador que creo que todos deberíamos experimentar además de colaborar y participar en diferentes proyectos experimentales.

¿Cuáles son vuestras funciones como tesoreros de la SECAL?

DM: Pues, controlar los dineritos, jeje. Pagar, cobrar... y negociar cuánto!! También elaborar los presupuestos anuales, ordenar la información, intentar comprenderla y finalmente, transmitirla a los socios en forma de "informe de tesorería". Y todo esto de la mano de presidencia y secretaría, junto con el resto de la junta. Un engranaje que funciona bien y mejora en cada reunión.

VB: Como novata en el cargo, puedo decir que en tesorería se controla cualquier cobro, gasto o ingreso que se realiza en las cuentas de la sociedad y que contamos con el apoyo de una asesoría/gestoría que nos dirige y tutela, tanto en el ámbito legal como en la facturación o justificación de gastos.

Tengo que reconocer que el cargo me abrumó un poco al principio. Ser tesorera de una sociedad de casi 400 socios es una responsabilidad muy grande. Pero, es cierto, que una vez vistos los números y el funcionamiento, todo está muy controlado y justificado, para tranquilidad de todos.

Como tesoreros participamos de las decisiones económicas sometidas a Junta de Gobierno (JdG) igual que todos los vocales, pero no tomamos decisiones de forma unilateral. Nos encargamos también de elaborar los resúmenes económicos y controlar "El Mayor", el gran libro de tesorería en el que absolutamente cualquier movimiento queda registrado.

Otra labor de tesorería, concretamente, del vicesorero/a es mantener el vínculo con *Laboratory Animals*, tanto aportando información a la JdG de las decisiones que se toman en la reunión anual como facilitando los datos de los socios suscritos a la revista *Laboratory Animals*.

¿Dedicáis mucho tiempo en vuestro trabajo como tesoreros?

DM: Menos del que debería y más del que me esperaba. Han desaparecido los momentos "valle". Pero no puedo decir que no me avisaron. Mi gurú en esta actividad, mi jefa de los dineros, la que me metió en este lío, me avisaba con cada "ya queda menos para que te encargues tú, ¡qué ganas!" ¡Gracias Carlota!

VB: Te diría que va a picos con un goteo constante... jajaja! Habitualmente, hay que realizar cambios o subsanar problemas en los datos de *Laboratory Animals*, realizar pagos ya sea a empresas, alumnos, profesores... quizá sea más un goteo constante.

¿En qué ítems se distribuye el presupuesto de la SECAL?

DM: Principalmente en formación (becas y cursos) y comunicación (revista, jornadas y congresos, SECAL-L, concursos...). Existe también una partida importante en la participación en otras sociedades. Este presupuesto se basa en la aportación de los socios y en la colaboración de los socios benefactores en todos los proyectos que se nos ocurren. Y aprovecho para dar las gracias a todas y cada una de esas empresas colaboradoras. Son imprescindibles para que SECAL pueda realizar su labor, y siempre están ahí.

VB: SECAL como Sociedad participa y forma parte de otras sociedades como FELASA, ICLAS, AALAS, *Laboratory Animals*... y como tal, hay que abonar las suscripciones. Estas suscripciones aportan diferentes beneficios a la SECAL como serían la participación y toma de decisiones dentro de estas sociedades europeas, así como beneficios directos para los socios de la SECAL, como por ejemplo, el acceso a la revista *Laboratory Animals* a un precio competitivo.

Otras partidas importantes son las destinadas a formación, desde la participación directa en diversos cursos que todos conocéis, como en la entrega de diferentes becas de formación, ayudas para viajes a las jornadas o congresos...

Comunicación es otra partida importante. La elaboración de la revista "Animal de Laboratorio" que reciben todos los socios (montaje, maquetado, envío...) supone también un gasto a tener en cuenta. Los autores de los artículos así como las personas que voluntariamente se encargan de gestionar la revista, no reciben compensación económica por ello. Desde aquí mi agradecimiento.

También hay otros gastos que cubrir como mantenimiento de la página web, gestoría, mensajería... Pero, en resumen y como habéis podido ver, los presupuestos se centran principalmente en Formación, Comunicación y en la pertenencia a diferentes Sociedades que reportan beneficios a la SECAL.

SECAL tiene alrededor de 400 socios numerarios y benefactores. ¿Pensáis que la cuota de los socios es uno de los factores limitantes para que no seamos más?

DM: Sinceramente, no. Creo que somos una sociedad económica en relación al beneficio que obtenemos y producimos. Tenemos una revista excepcional, unas opciones de ayudas a la formación y a la asistencia a actividades profesionales muy amplias. Y además participamos en otras sociedades y entidades con voz y voto para estar presentes en la toma de decisiones importantes. Y nos juntamos una vez al año, en una jornada o un congreso que cada vez tienen más repercusión en los medios y en la sociedad.

VB: La cuota de socios no creo que sea el factor limitante, más aún si se analizan los beneficios que te aporta pertenecer a la SECAL, entre los que destacaría el acceso a una maravillosa red de contactos en SECAL-L y la formación que la SECAL pone al alcance de sus socios.

Creo que puede ser por desconocimiento de los beneficios que puede reportar unido a que las entidades no suelen abonar estas cuotas y la gente quizá prefiera invertir en otros ámbitos.

SECAL además de tener una cuota reducida, ¿debería entonces poner más recursos para captar socios dentro de los colectivos de cuidadores y técnicos?

DM: Sin duda. SECAL debe darse a conocer como lo que es: un foro, una herramienta, un espacio común para todos los que formamos parte de este mundo. Muchos técnicos y cuidadores creen que la SECAL no es para ellos y eso sólo puede ser porque no conocen muchos aspectos de esta sociedad.

VB: Por supuesto. Nuestro colectivo no puede nutrirse sólo de veterinarios y biólogos. Todos formamos parte del mundo del animal de laboratorio, desde los cuidadores y los técnicos hasta las empresas suministradoras de productos, y por ello, todos deberían poder participar de esta sociedad.

¿Cuáles son los objetivos marcados durante vuestro paso por la Junta de Gobierno?

DM: El objetivo más importante es seguir con la increíble labor que han hecho los que antes han pasado por aquí. Si podemos ahorrar un poquillo y podemos mejorar en la gestión del dinerito perfecto, pero hay que reconocer que la SECAL funciona muy bien.

VB: Cada uno dentro de la Junta de Gobierno tenemos nuestro papel principal, pero todos participamos de las decisiones y de las iniciativas.

Dentro del papel de tesorería creo que es muy importante realizar una buena gestión de los recursos económicos, como se ha ido haciendo hasta la fecha. De esta forma, podemos destinar partidas económicas a nuevos e interesantes proyectos o dar más soporte a los que ya estén establecidos y lo necesiten.

Uno de los principales cambios que hicimos al establecerse la nueva junta fue el de cambiar de gestoría con la intención, no sólo de mejorar el servicio recibido y reducir el gasto que suponía, sino también con la intención de ampliar horizontes buscando un equipo asesor que nos ayude a dar más visibilidad a la sociedad dentro de la población, que nos ayude a captar más socios de diferentes áreas, etc.

Dentro de las especialidades del mundo del animal de laboratorio, el *marketing* no es una de ellas y aunque cada uno aportemos nuestro granito personal, contar con un servicio externo que nos oriente creo que es muy importante.

¿Qué tal lo lleváis como equipo?

DM: Cuatro palabras: poli bueno, poli malo, jeje. Y con una persona como Viviana, todo se hace más fácil y más alegre!

VB: Bueno... ;) David es una persona con la que se puede hablar fácilmente y dispuesta siempre a participar, conciliar y mejorar, por lo que hasta la fecha, está siendo todo muy fácil entre nosotros. Le habré consultado por gastos, cobros y demás unas 20 veces!! Y las que quedan! Jajaja. Espero que después de decir esto no cambie.



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

