

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

ANIMALES DE LABORATORIO

Primavera 2019. Número 81



Refinamiento en pruebas
de conducta en roedores

Ecografía fetal de ratón:
nuevos métodos de adquisición

Protocolo anestésico en modelo
animal porcino de cirugía cardíaca
con circulación extracorpórea

Entrevista:
Luis Muñoz de la Pascua



+++
ENVIGO

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

Introducing SHrN[®]

The most immunodeficient hairless model available.

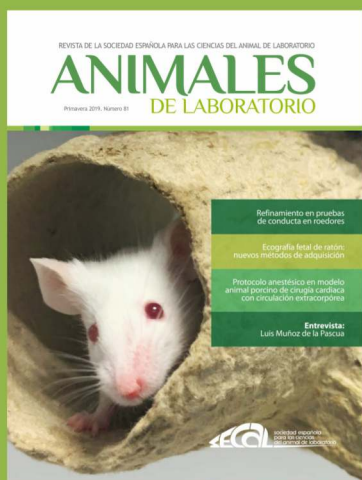
With a level of immunodeficiency that goes beyond other traditional hairless SCID mice and with fewer dendritic cells than all triple-deficient models, the SHrN brings a new option to oncology and immunology researchers. And, with no need for shaving, you'll save time and effort.

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



envigo.com

Grupo Editor



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

www.secal.es

DIRECTORA

Lara Sedó Cabezón
direccion.revista@secal.es

SUBDIRECTORA

María Granada Picazo Martínez
direccion.revista@secal.es

EDITORES DE ESTILO E IMAGEN

Olga Fernández Rodríguez
omfr75@yahoo.es
Rubén Mota Blanco
ramota@externo.cnice.es

PUBLICIDAD

David Mayo López
publicidad.revista@secal.es

FOTO DE PORTADA

Suministrada por la SECAL
DISEÑO Y MAQUETACIÓN
pluscs@hotmail.com

IMPRIME

LPG
lpgetextil@gmail.com

DEPÓSITO LEGAL

M-1362-1999

Un equipo

El proceso de edición de un número de la revista Animales de Laboratorio es un reto nuevo para todos los que formamos parte de ella, y como cualquier reto, la mejor forma de afrontarlo es con ilusión, ganas y sin perder nunca el objetivo final: que todos los socios y socias de la SECAL podamos disfrutar y aprender con su lectura.

Hasta que la revista llega a nuestros buzones, transcurren una sucesión de etapas que no serían posibles sin un equipo de personas, muchas ni siquiera nos conocemos personalmente, pero hemos establecido un vínculo en común que nos une cada trimestre para darle forma a un nuevo número de la revista. Desde la primera fase, de la mano de cada responsable de sección, vamos engranando las distintas etapas, pasando por editores y correctores de estilo e imagen, maquetación, de nuevo revisión, publicación en la web, hasta la última, que es el envío de la revista en formato papel a los socios.

Cuando, finalmente, tenemos la revista en nuestras manos, sentimos la satisfacción del trabajo realizado. Es en ese momento, mientras todos los socios disfrutáis de su lectura, que iniciamos el nuevo ciclo para crear el siguiente número, sin perder un ápice de esa ilusión y esas ganas que nos llevan a trabajar en la revista número tras número.

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)
Jose Luis Martin 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)

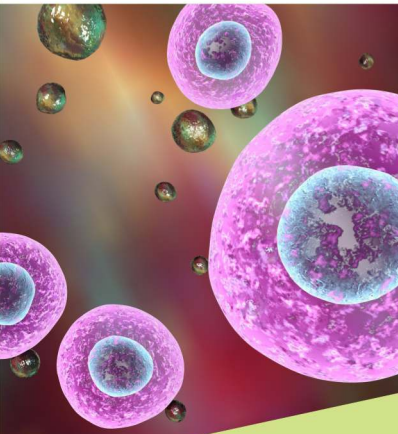
SOCIOS BENEFACTORES



- ▶ 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, S.L.
- ▶ ANADE
- ▶ VESTILAB C.R.C., S.L.U.
- ▶ NORAY BIOINFORMATICS, S.L.U.
- ▶ ANTONIO MATACHANA, S.A.
- ▶ PROLABOR
- ▶ BIOGEN CIENTÍFICA, S.L.
- ▶ 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



SOCIOS
BENEFACTORES





Directora
**LARA
SEDÓ CABEZÓN**
direccion.revista@secal.es



Subdirectora
**MARÍA GRANADA
PICAZO MARTÍNEZ**
direccion.revista@secal.es



Editora de estilo e imagen
**OLGA
FERNÁNDEZ RODRÍGUEZ**
omfr75@yahoo.es



Editor de estilo e imagen
**RUBÉN
MOTA BLANCO**
ramota@externo.cnic.es



Publicidad
**DAVID
MAYO LÓPEZ**
publicidad.revista@secal.es

RESPONSABLES DE SECCIÓN



Noticias SECAL/Actualidad
**SERGI
VILA BELLMUNT**
servigilab@gmail.com



Técnicas
**ALEXANDRA
DE FRANCISCO LÓPEZ**
afrancisco@hggm.es



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



Al cuidado
**DANIEL
DEL OLMO FERNÁNDEZ**
olmo@vivotecnia-ms.com



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



Panorama
**LUIS
MUÑOZ DE LA PASCUA**
lmp@usal.es



Control sanitario
**JOSEP M.
MARIMON ESCUDÉ**
jmmarimon@ub.edu



Reproducción y genética
JORGE SZTEIN
jsztein@gmail.com



Anestesia y analgesia
**JAVIER
BENITO DE LA VÍBORA**
benedictusviper@hotmail.com



In vitro
**GUILLERMO
REPETTO KUHN**
grehkuh@upo.es



Bienestar animal
**GARIKOITZ
AZKONA MENDOZA**
gazkona@prbb.org



CEEA-OH
**ALBERTO
PASTOR CAMPOS**
albertopastor@umh.es



Tinciones y tejidos
**ANA ISABEL
NIETO RUÍZ DE ZÁRATE**
anieto@ugr.es



ABSLab
**FRANCISCO JAVIER
GARCÍA PALOMO**
jpalomo@usal.es



Indicios
**LOLA
GARCÍA OLMO**
dgarcia@creballeida.org



Entrevista
**HERNÁN
SERNA DUQUE**
hserna@binaex.com

Han colaborado en este número:

Teresa Rodrigo, Cap de les Unitats d'Experimentació Animal de Farmàcia i Psicologia / **Helena Paradell**, Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L. / **Marta Giral**, Responsable of Animal Welfare and Designated Veterinarian, Animal Research Facilities Almíral / **Juan Rodríguez**, Consultory Asesor.

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

ÍNDICE ÍNDICE ÍNDICEÍ

EDITORIAL

8 NOTICIAS SECAL

- FELASA anuncia los ganadores de los Premios en su 40 aniversario.

10 ACTUALIDAD

- Ejemplos de transparencia en Experimentación Animal.
- Novedad bibliográfica: Editando genes: recorta, pega y colorea. Las maravillosas herramientas CRISPR.

17 TÉCNICAS

- Ecocardiografía fetal de ratón: nuevos métodos de adquisición.

22 SEGURIDAD EN 5 MINUTOS

- Sustituir lo peligroso.

24 ALCUIDADO

- Hacia un nuevo horizonte.

27 CONTROL SANITARIO

- Probióticos y prebióticos: implementar la salud desde la microbiota.

30 ANESTESIA Y ANALGESIA

- Protocolo anestésico en modelo animal porcino de cirugía cardiaca con circulación extracorpórea.

40 BIENESTAR ANIMAL

- Refinamiento en pruebas de conducta en roedores.

44 ABSLab

- La norma UNE 171400-1:2019 Diseño de instalaciones de Nivel 3 de Contención Biológica (NCB3).

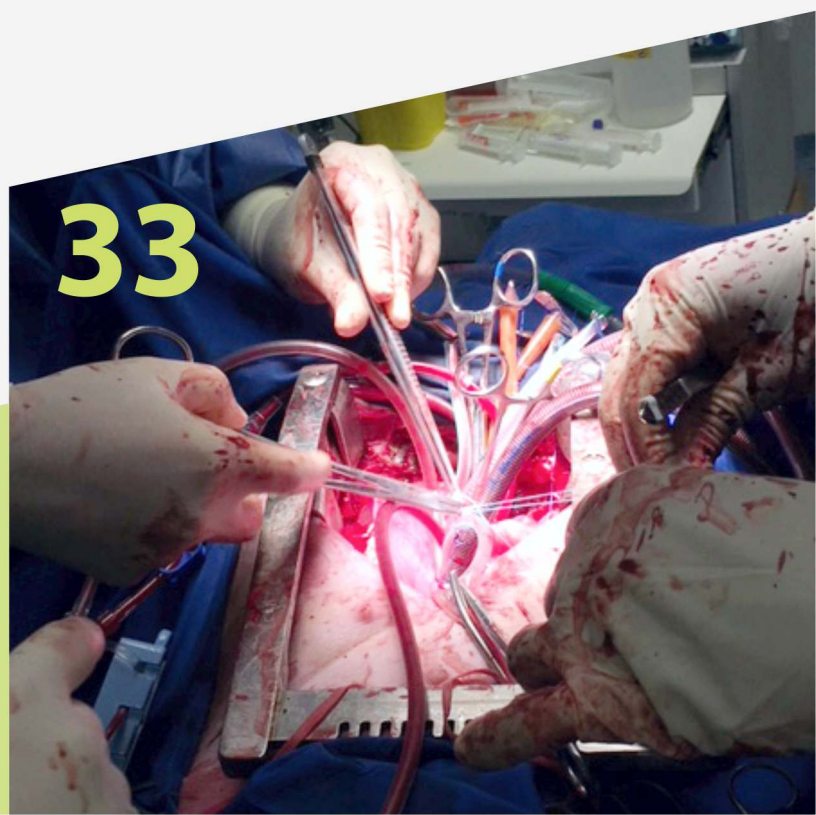
49 INDICIOS

- Presentación de la sección.

50 ENTREVISTA

- Luis Muñoz de la Pascua.

Nota: En la web de la SECAL encontraréis el artículo Enriquecimiento ambiental en ratones de laboratorio, correspondiente al número 75 de la revista, con el apartado bibliografía actualizado.



FELASA anuncia los ganadores de los Premios en su 40 aniversario

Como parte de la celebración del 40 aniversario de FELASA, la Junta Directiva decidió conceder cuatro Premios de Aniversario especiales durante 2018. Estos premios se otorgaron por contribuciones sobresalientes en el fomento de la Ciencia del Animal de Laboratorio en un país europeo, espíritu de FELASA en los últimos 40 años.



Imagen suministrada por la autora

Los ganadores han sido:

- **Werner Nicklas**, galardonado con el Premio Científico 40 Aniversario de FELASA, por sus méritos científicos.
- **Patri Vergara**, galardonada con el Premio a la Educación 40 Aniversario de FELASA, en agradecimiento a su labor docente en el desarrollo de cursos y programas educativos y también en reconocimiento a su visión pedagógica en el campo de la Ciencia del Animal de Laboratorio.
- **Camilla Bengtsson y Maria Eriksson**, galardonadas conjuntamente con el Premio Técnico 40 Aniversario de FELASA, por sus iniciativas para el avance de la tecnología animal.
- **David Anderson**, galardonado con el Premio a la Comunicación 40 Aniversario de FELASA, por su trabajo en la comunicación y la transparencia de las ciencias del animal de laboratorio a la sociedad.

SECAL felicita a los premiados y a todos los nominados.

PUBLICA TUS
ARTÍCULOS EN
NUESTRA REVISTA.
CONTÁCTANOS

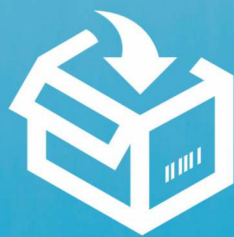
www.secal.es

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.

Ejemplos de transparencia en Experimentación Animal

En 2016, la Confederación de Sociedades Científicas de España (COSCE) presentó el Acuerdo de Transparencia en Experimentación Animal, al que ya se han sumado más de 130 instituciones.

Uno de los compromisos es “Proporcionar información adecuada a los medios de comunicación y al público en general sobre las condiciones en las que se realiza la investigación que requiere el uso de modelos animales y los resultados que de ella se obtienen”. En esta sección, destacaremos los últimos ejemplos publicados:

EL VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN PRESENTA A LA PRENSA LAS INSTALACIONES Y SERVICIOS DEL ANIMALARIO DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA (ULL)

18/3/2019, <https://www.ull.es/portal/noticias/2019/prensa-visita-animario/>



Fotografía: Emeterio Suárez (CC BY 3.0)

La Universidad de La Laguna ha realizado presentaciones a los medios de comunicación en las que diferentes vicerrectorados y servicios institucionales han explicado personalmente a los periodistas sus actividades y servicios. La última de estas visitas, organizada por el Vicerrectorado de Investigación, se desarrolló el 18 de marzo y fue un recorrido por el Animalario.



Fotografía: Emeterio Suárez (CC BY 3.0)

Esta infraestructura forma parte del Servicio General de Apoyo a la Investigación (SEGAI) y se encarga de conservar y tratar a los diferentes animales que utilizan los investigadores no sólo de la institución académica, sino también de unidades de investigación de los hospitales públicos tinerfeños. Actualmente, conserva ejemplares de ratones, ratas, conejos, ranas y mosquitos, que se están empleando en diferentes proyectos.



Fotografía: Emeterio Suárez (CC BY 3.0)

La responsable del servicio, M^a Rosa Arnau, explicó que esta infraestructura científica está sometida a una estricta legislación que fija las condiciones de conservación de los animales y la formación necesaria que debe poseer todo el personal que trabaja en él. El edificio cuenta con un área totalmente aislada del exterior a la que solamente se puede acceder una vez el personal se ha duchado y esterilizado, y también posee un sofisticado equipamiento para mantener las condiciones ambientales y de salubridad que precisan los animales custodiados. Arnau explicó que el coste de mantenimiento y preparación de los animales para investigación es muy alto y es sufragado con cargo a cada uno de los proyectos de investigación.



Fotografía: Emeterio Suárez (CC BY 3.0)

La responsable del servicio también explicó que el Animalario, además de custodiar y preparar animales, sirve para desarrollar actividades de formación. Por ejemplo, organiza cursos específicos para que los cirujanos de determinadas especialidades puedan practicar nuevas técnicas. También recibe anualmente una media de 500 niños en edad escolar que visitan sus instalaciones.



Fotografía: Emeterio Suárez (CC BY 3.0)

Muchos de los especímenes están tratados para desarrollar dolencias específicas y así poder probar en ellos determinados tratamientos. De este modo, durante la visita se pudieron ver ratones para un proyecto sobre enfermedades renales, ratas utilizadas para una investigación sobre cáncer, o mosquitos que se están utilizando para probar un prototipo de pintura con capacidad para matar a estos insectos que, como recordó Arnau, son responsables de infecciones que afectan a un tercio de la población mundial.



Fotografía: Emeterio Suárez (CC BY 3.0)

EL RATÓN MUTANTE DE PATTY BONET

07/02/2019, EL PAÍS, Video <https://youtu.be/Sigxo3Virho>

En este reportaje de Manuel Ansele en El País, la actriz Patty Bonet visitó el Centro Nacional de Biotecnología (CNB), en Madrid, para conocer por primera vez a su avatar roedor. El equipo del genetista Lluís Montoliu ha creado un ratón con exactamente la misma mutación que la actriz, gracias al CRISPR.

El equipo de Montoliu fue pionero en el arte de crisperizar ratones en España. Tienen unos 1.500 ejemplares en el laboratorio, la mayoría de ellos modificados genéticamente para estudiar el albinismo. En el laboratorio, Montoliu también custodia un corte de los ojos de Copito de Nieve, el legendario gorila albino del zoo de Barcelona, que también presentaba una mutación en el gen SLC45A2.

La humanidad, según detalla el genetista, lleva más de 30 años generando ratones mutantes. El Laboratorio Jackson, en Bar Harbor (EE. UU.), calcula que hasta la fecha se han obtenido ratones modificados genéticamente para representar unas 1.500 enfermedades humanas, menos del 10% de las 18.000 patologías conocidas.

“Con CRISPR podemos hacer lo que hacíamos antes con otras técnicas, pero en una tercera parte del tiempo y con una décima parte del dinero”, celebra Montoliu. “Es una verdadera revolución. Hay un antes y un después”.

Ahora, la intención del investigador es utilizar la estirpe de ratones con la mutación de Patty Bonet para ensayar dos fármacos, la levodopa y la nitisinona, ambos prometedores para revertir la pérdida de agudeza visual provocada por el albinismo.

“No sé si llegará un día en el que yo pueda disfrutar de esos avances, pero sí que me consuela pensar que, en un futuro, o en generaciones venideras, la investigación con estos ratones servirá para que las personas con albinismo puedan ver un poquito mejor”, reflexiona la actriz.

REPORTAJE EN LA TELEVISIÓN AUTONÓMICA DE CANARIAS (TVC) SOBRE EL ÁREA DE BIOSALUD Y EXPERIMENTACIÓN ANIMAL DEL MUSEO ELDER

Como muchos recordaréis, coincidiendo con la celebración del XIV Congreso Nacional de la SECAL realizado en las Palmas de Gran Canaria en junio de 2017, se celebró la inauguración del área permanente dedicada a la “Investigación biomédica con modelos animales” del Museo Elder de la Ciencia y Tecnología de Las Palmas de Gran Canaria.

Un proyecto didáctico e innovador del Museo Elder, que pretende ser un marco de divulgación y transparencia de la experimentación animal.

En este proyecto colaboraron la SECAL, el Hospital de Gran Canaria Doctor Negrín, Biosis S.L. y el Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB), aunque debemos reconocer que fue posible gracias a la implicación personal tanto de José Gilberto Moreno (Director del Museo) como de José Luis Martín Barrasa (Veterinario Responsable del Animalario del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, secalero y Presidente del XIV Congreso).

Dentro del programa Canarias 2.0 de la Televisión Autónoma de Canarias TVC, se emitió un pequeño reportaje dedicado al área de biosalud y experimentación animal del Museo Elder.

Este vídeo <https://youtu.be/UPDKYkMZQ-E>, se puede solicitar a la vocalía de Comunicación de la SECAL como recurso para actividades de divulgación y transparencia.



RED

WASHERS

¡DESCUBRE TU NUEVA ZONA DE LAVADO!



- MAYOR RENDIMIENTO Y PRODUCTIVIDAD
 - MAYOR FLEXIBILIDAD Y FACILIDAD DE USO
 - MAYOR ADECUACIÓN DEL ESPACIO OPERATIVO
 - MAYOR AHORRO DE CONSUMOS EN SUMINISTROS

iwt
a **TECNIPLAST** company

representado por

●●● matachana | **+50**
Experience that improves lives | YEARS

WWW.IWTSRL.IT | WWW.MATACHANA.COM

Novedad bibliográfica: Editando genes: recorta, pega y colorea. Las maravillosas herramientas CRISPR

Autor: Lluís Montoliu
Título: Editando genes: recorta, pega y colorea.
Las maravillosas herramientas CRISPR
Editorial: Next Door Publishers S.L.
Año de la edición: 2019
Número de páginas: 436
Colección: El Café Cajal

En esta obra, que está ya a la venta, el Dr. Montoliu repasa en un lenguaje sencillo y asequible para todos los públicos la historia de las herramientas CRISPR, desde que las descubrió en las bacterias el investigador y microbiólogo español Francis J.M. Mójica (autor del prólogo del libro) hasta que, desde 2013, estas tijeras moleculares comenzaron a revolucionar la edición genética.

A lo largo de 20 capítulos, se relatan los hitos más relevantes y los investigadores que han jugado un papel especial en la historia de una de las revoluciones tecnológicas más impactantes que han afectado a la biología y a todas las disciplinas científicas relacionadas, como la biotecnología o la biomedicina.



A finales de enero, la cuenta de Twitter del biotecnólogo **Lluís Montoliu** (Barcelona, 1963) nos proponía un acertijo con imágenes de tijeras y caramelos como pistas. Finalmente, nos desveló el secreto, la publicación de su libro.

En esta obra, que está ya a la venta, el Dr. Montoliu repasa en un lenguaje sencillo y asequible para todos los públicos la historia de las herramientas CRISPR, desde que las descubrió en las bacterias el investigador y microbiólogo español Francis J.M. Mójica (autor del prólogo del libro) hasta que, desde 2013, estas tijeras moleculares comenzaron a revolucionar la edición genética.



Imagen suministrada por la autoría

En el libro se habla de prácticamente todas las aplicaciones que se han descrito o discutido asociadas al uso de las herramientas CRISPR de edición genética:

- Las aplicaciones en bacterias, hongos, plantas y animales, modificando sus genomas respectivos con mutaciones específicas capaces de producir organismos mejor adaptados y/o más aprovechables para su consumo.

- Las aplicaciones de impulso génico, encaminadas a interferir con el ciclo vital de mosquitos transmisores de parásitos y virus causantes de la malaria, la fiebre amarilla o el dengue.
- También las aplicaciones más innovadoras, en diagnóstico genético o en modificación de cerdos para poder ser usados en xenotrasplantes con mayor seguridad.
- Y, finalmente, una parte importante del libro versa sobre las aplicaciones en biomedicina, tanto para reproducir mutaciones específicas de pacientes en modelos celulares o animales, como los ratones avatar, como para desarrollar estrategias de terapia génica avanzada que permitan tratar algunas de las miles de enfermedades raras congénitas actualmente incurables.

Pero, todavía, no todo son éxitos en el mundo CRISPR. No podemos trasladar todos los experimentos a pacientes, con la suficiente seguridad, debido, principalmente, a la incertidumbre asociada a los procesos de reparación que deben ocurrir tras el corte en el ADN inducido por los sistemas CRISPR. Por ello, el autor resalta que debemos seguir investigando en el laboratorio antes de poder aplicar rutinariamente las técnicas de edición genética en terapias en hospitales.

Como toda revolución, estas nuevas herramientas han creado preguntas y aspectos éticos para su uso con sentido común y con responsabilidad. El uso responsable de la edición genética con CRISPR es uno de los mensajes más importantes del libro y especialmente en el capítulo ¿Todo lo que podemos hacer lo debemos hacer?

Este libro es un ejemplo de divulgación de uno de los temas fundamentales de la biología en los próximos años y en el que las Ciencias del Animal de Laboratorio tienen un papel fundamental. Hablar del futuro de la edición genética, es prácticamente hablar del presente. Por ello los temas descritos son claves para interpretar las aplicaciones derivadas del uso de CRISPR.



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

**ANÚNCIATE
EN ANIMALES
DE LABORATORIO**

**LA REVISTA DE
LA SECAL**

publicidad.revista@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



Ecocardiografía fetal de ratón: nuevos métodos de adquisición

Lorena Flores-Ruiz¹, Eva Sánchez de Rojas-de Pedro¹, Ana Vanesa Alonso-López¹, María Villalba-Orero¹, Luis Jesús Jiménez-Borreguero⁴, Lorena Cusó^{1,2,3,5}, Manuel Desco^{1,2,3,5}

¹Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, España

²Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

³Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III, Madrid, España

⁴Hospital Universitario de la Princesa, Madrid, España

⁵Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), España

INTRODUCCIÓN

La Ecocardiografía Fetal (EF) es una técnica esencial para detectar el motivo de la muerte prenatal cuando hay sospechas de patología cardíaca, dado que permite identificar diferentes patologías del feto antes del nacimiento. Esta técnica es de gran utilidad cuando se trabaja con modelos transgénicos de afecciones cardíacas, ya que en la mayoría de los casos los embriones no llegan a término de la gestación. La ecocardiografía fetal, al igual que en la práctica clínica, ha cobrado relevancia en los últimos años en la investigación preclínica en roedores¹⁻⁴. La principal limitación de este método es que la posición fetal del ratón en el útero dicta los planos de imagen que se pueden adquirir, lo cual limita mucho el estudio ecocardiográfico. Además, puede dar lugar a errores en la identificación de los animales.

El objetivo de este trabajo es evaluar dos protocolos alternativos a la técnica abdominal convencional de MacGrogan *et al.*¹, que permitan la realización de estudios más completos de ecocardiografía fetal en roedores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se han empleado un total de 72 ratones hembras gestantes, lo cual supone un total de 449 fetos, divididos en: 24 evaluados con EF abdominal convencional (protocolo de referencia), 252 evaluados con EF mediante exposición de los cuernos uterinos y 172 evaluados con EF individualizada.

Para la realización de todos los estudios, las hembras fueron anestesiadas con isoflurano (inducción al 2% y mantenimiento al

1-1,5%), administrado en oxígeno al 100% (0,8-1 ml/min). Todos los estudios se han realizado con el sistema de ecografía de animal pequeño VEVO 2100 (Visualsonics, Toronto, Canadá) y la sonda de MS700 ajustada a 40 MHz (Visualsonics, Toronto, Canadá).

PROCEDIMIENTO

Preparación de las hembras gestantes

El día previo al estudio de imagen, se depila el abdomen del animal con crema depilatoria, en nuestro caso, VICHY (Vichy Laboratoires Montreal, Canadá). Es necesario hacer la depilación el día anterior para evitar tener más tiempo del necesario anestesiado al animal el día del estudio, dado que la anestesia influye en parámetros cardiovasculares^{5,6}. Además, limitamos interacciones adversas entre los restos de crema depilatoria y el gel conductor de ultrasonidos.

Protocolos de ecocardiografía

- EF abdominal convencional** según el protocolo de MacGrogan *et al.*¹
 - Una vez anestesiada, se sitúa a la hembra en la plataforma de posicionamiento, administrando la anestesia inhalatoria a través de una mascarilla, y ajustando la cantidad de isoflurano en el vaporizador.
 - Se coloca cada extremidad del animal en un electrodo de la plataforma, al que previamente se ha aplicado gel conductor de ultrasonidos (Unidix, Clinimark S.L.) para obtener el electrocardiograma (ECG). Las extremidades se mantienen en

Técnicas

esa posición con cinta adhesiva (ver Figura 1A). Se aplica gel protector (Tears Naturele Lubricant Eye P.M., Alcon) en los ojos del animal para evitar que se resequen durante el estudio.

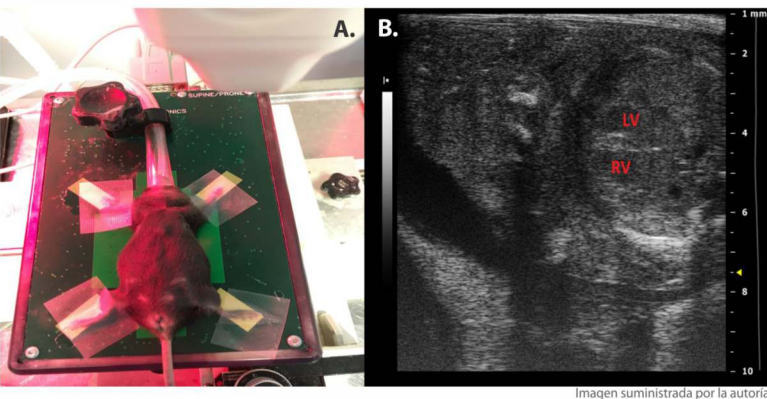


Figura 1.- EF abdominal convencional. A. Posicionamiento de la hembra en la plataforma. B. Imagen ecográfica de los ventrículos de uno de los fetos, donde se pueden diferenciar ambos ventrículos (LV, ventrículo izquierdo; RV, ventrículo derecho).

- Se coloca la sonda de temperatura por vía rectal para poder controlar en todo momento este parámetro y evitar su disminución. La plataforma y el gel conductor de ultrasonidos se mantienen también a 37°C. Se posiciona la sonda MS700 en el sistema de ejes y descendemos hasta tocar el gel.
- Situamos la plataforma con los movimientos necesarios para conseguir ver la imagen cardíaca del primer feto (ver Figura 1B). Se empieza la adquisición por el feto más caudal del cuerno uterino izquierdo de la madre y se continua por el contiguo en sentido rostral.

Con este protocolo se pueden obtener los siguientes parámetros: frecuencia cardíaca (FC), existencia de arritmias, insuficiencia aórtica (IAo), fracción de eyección calculada por modo M (FEVI) y existencia de derrame pericárdico (DP).

2. EF mediante exposición de los cuernos uterinos

- Se coloca a la hembra anestesiada en la plataforma de posicionamiento cómo ya hemos descrito previamente. Tras lo cual se realiza una laparotomía en las hembras exponiendo un cuerno uterino, y se adquieren imágenes, desde el feto más caudal al más rostral. El otro cuerno uterino, se deja dentro del abdomen de la hembra gestante para que no disminuya su temperatura (ver Figura 2A).

- A continuación, se aplica gel conductor de ultrasonidos y se coloca la sonda para empezar a adquirir los planos.
- Una vez adquiridas las imágenes del primer cuerno uterino (ver Figura 2B) se introduce de nuevo en el abdomen de la hembra y se expone el otro cuerno; de esta forma mantienen la temperatura y se evita el secado de las mucosas. Durante la adquisición de la imagen, el técnico puede recolocar los fetos, dentro de su bolsa, para situarlos en el plano que mejor convenga para hacer las mediciones deseadas.

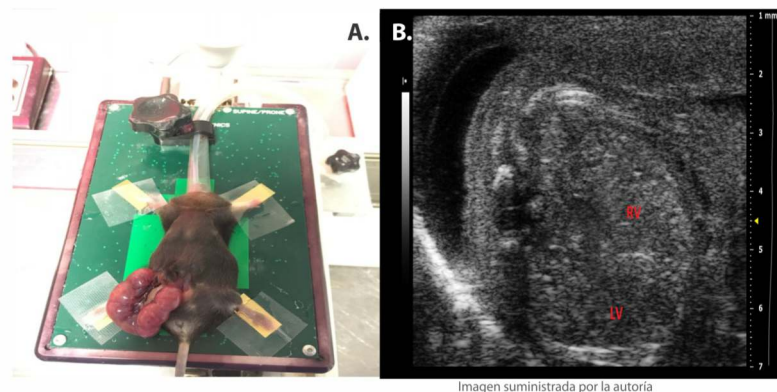


Figura 2.- EF mediante exposición de los cuernos uterinos. A. Posicionamiento de la hembra en la plataforma con el cuerno uterino derecho expuesto. B. Imagen ecográfica de los ventrículos de uno de los fetos, donde se pueden diferenciar ambos ventrículos (LV, ventrículo izquierdo; RV, ventrículo derecho).

Con este protocolo además de los parámetros ya citados en la EF abdominal convencional se pueden evaluar: insuficiencias valvulares tales como insuficiencia mitral (IM) e insuficiencia tricúspide (IT), las dimensiones de las cavidades del ventrículo izquierdo mediante la evaluación del grosor del tabique interventricular (SIV), el diámetro tele diastólico (DdVI), el diámetro tele sistólico (DsVI) y el grosor de la pared posterior (PP).

3. EF individualizada

- Para llevar a cabo este procedimiento se requiere la exteriorización de los cuernos uterinos y se realiza del mismo modo que en el primer punto del protocolo anterior.
- Se extraen todos los fetos y se colocan en una plataforma térmica (Plactronic, JP Selecta SA, Barcelona, España) para

evitar la pérdida de temperatura y mantener las condiciones fisiológicas de los mismos en la medida de lo posible.

- Se van reanimando inmediatamente después de la extracción y de manera continuada, ejerciendo presión en una de las extremidades traseras, para verificar su reflejo podal hasta completar la adquisición de las imágenes.
- Se colocan los fetos sobre unos rodillos de algodón para evitar la hiperextensión de las extremidades sin necesidad de anestesiarse al feto (ver Figura 3A), de esta manera, podemos realizar el estudio ecocardiográfico a los fetos de manera individual (ver Figura 3B).

Con este protocolo, se puede adquirir un estudio ecocardiográfico completo ya que nos permite complementar los datos obtenidos con el protocolo de exposición uterina con valores de fracción de eyección calculada en área longitud (FEVI A-L) y contractilidad segmentaria. Cabe destacar que, cuanto más

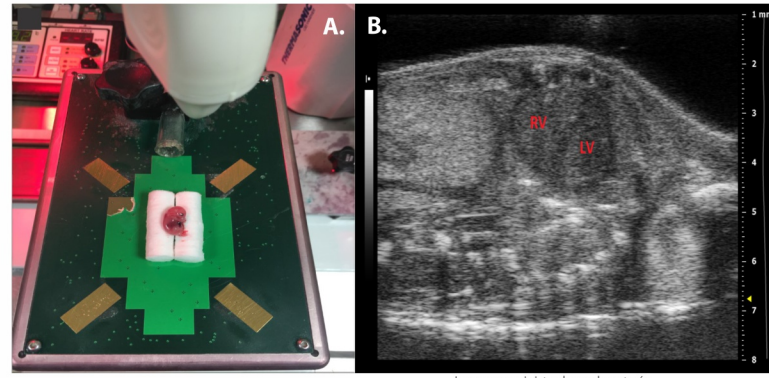


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.-EF individualizada. A. Posicionamiento del feto sobre los rodillos. B. Imagen ecográfica de los ventrículos de uno de los fetos, donde se pueden diferenciar ambos ventrículos (LV, ventrículo izquierdo; RV, ventrículo derecho).

cerca del final de la gestación se realiza este procedimiento, más eficaz es la reanimación de los fetos para poder realizar esta ecocardiografía.

VENTAJAS E INCONVENIENTES (ver Tabla 1)

Tabla 1.-Resumen de las ventajas e inconvenientes de cada uno de los protocolos de EF.

Protocolo EF	Ventajas	Desventajas
Abdominal convencional	<ul style="list-style-type: none"> - Método no invasivo, implica el mantenimiento fisiológico de los fetos. - Permite estudios longitudinales. - Sin limitación de tiempo para llevar a cabo la adquisición. 	<ul style="list-style-type: none"> - Movilidad libre de los fetos, dificultando la adquisición, y posterior análisis, de algunos planos. - Ventana ecocardiográfica limitada. - Difícil distinción entre el ventrículo derecho y el izquierdo. - Posible error en la identificación de los fetos tras el nacimiento.
Exposición de los cuernos uterinos	<ul style="list-style-type: none"> - Mejor ventana en comparación con el protocolo abdominal y una mejor adquisición de los planos. - Identificación certera de los fetos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tiempo de adquisición más limitado con respecto al protocolo abdominal. - Eventual aparición de hipotermia y bradicardia en los fetos que se adquieren en último lugar. - Pueden producirse rotaciones espontáneas de los fetos dentro del saco. - Estudio terminal.
Individualización fetal	<ul style="list-style-type: none"> - Mejor ventana ecocardiográfica. - Mayor facilidad para adquirir los diferentes planos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tiempo de adquisición mucho más limitado. - Eventual aparición de hipotermia y bradicardia en los últimos fetos adquiridos si el procedimiento se dilata en el tiempo. - Estudio terminal.

La ventaja más sustancial de los protocolos de EF presentados en este trabajo, frente a la EF convencional, es que permiten una valoración ecocardiográfica más completa de los fetos (ver Figura 4).



Figura 4.- Parámetros ecocardiográficos. Clasificación de las medidas y parámetros que se pueden obtener con cada uno de los protocolos de EF.

Su principal desventaja, por el contrario, es que se trata de métodos invasivos y de punto final.

CONCLUSIONES

La ecocardiografía fetal es una herramienta de imagen de gran ayuda en la investigación preclínica, ya que permite identificar diferentes patologías del feto antes del nacimiento. El método convencional para la evaluación de defectos cardiacos fetales es la técnica abdominal, muy limitada respecto a los planos y datos que se pueden obtener. Este artículo demuestra que la exposición de los cuernos uterinos o la individualización de los fetos son alternativas eficientes y complementarias a la imagen abdominal convencional. La elección del protocolo de EF dependerá de las sospechas de los investigadores sobre la patología fetal. Además, los métodos descritos en este trabajo pueden realizarse de manera aditiva, es decir, siempre podremos combinar en el tiempo un método no invasivo con uno invasivo.

AGRADECIMIENTOS

A Miguel Torres Sánchez, Silvia Martín Puig y José Luis de la Pompa Mínguez por cedernos las imágenes.

BIBLIOGRAFÍA

1. MacGrogan D., D'Amato G., Travisano S., et al. *Sequential Ligand-Dependent Notch Signaling Activation Regulates Valve Primordium Formation and Morphogenesis.* Circ Res. 2016;118(10):1480-97.
2. Golden H.B., Sunder S., Liu Y., et al. *In Utero Assessment of Cardiovascular Function in the Embryonic Mouse Heart Using High-Resolution Ultrasound Biomicroscopy.* Methods Mol Biol. 2012;843:245-63.
3. Liu X., Francis R., Kim A.J., et al. *Interrogating Congenital Heart Defects with Noninvasive Fetal Echocardiography in a Mouse Forward Genetic Screen.* Circ Cardiovasc Imaging. 2014;7(1):31-42.
4. Yu J., Wan Y., Chen P., et al. *Fetal Abdominal Contour Extraction and Measurement in Ultrasound Images.* Ultrasound Med Biol. 2008;34(2):169-82.
5. Wu J., Bu L., Gong H., et al. *Effects of heart Rate and Anesthetic Timing on High-Resolution Echocardiographic Assessment under Isoflurane Anesthesia in Mice.* J Ultrasound Med. 2010;29(12):1771-8.
6. Gentry-Smetana S., Redford D., Moore D., et al. *Direct effects of volatile anesthetics on cardiac function.* Perfusion. 2008;23(1):43-7.

Just What You'd Expect from a Solutions Provider.



Washing & Contamination Control Systems for Laboratory Animal Science.

Allentown is proud to introduce our newest line of Washing & Contamination Control Systems for the Laboratory Animal Science Industry! As an end-to-end Solutions Provider, dedicated to fulfilling the needs of all segments of our industry, these new solutions have been designed and engineered to provide the highest levels of efficiency and flexibility available on the market today. Our current line of Washing & Contamination Control products includes:

***Cabinet Washers / Rack Washers / Tunnel Washers / Air Showers / Decontamination Chambers
Transfer Stations / Pass-Through Boxes / Bottle Processing Equipment***

≡Allentown≡

Sustituir lo peligroso

Jesús Martínez Palacio y M^a del Carmen García Ortiz

Técnicos Superiores en Prevención de Riesgos Laborales, CIEMAT (Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas)

Uno de los principios básicos de la prevención es sustituir lo peligroso. Esto no es sencillo en muchos casos, aunque los avances técnicos y del conocimiento han permitido mejorar mucho en este sentido.

En nuestra actividad, englobada dentro del ámbito sanitario, es continuo el uso de diversos productos químicos cuya peligrosidad es evidente, y puede manifestarse en forma de efectos tales como cáncer, malformaciones congénitas, y asma, entre otros.

Igualmente, una vez utilizados, se convierten en residuos peligrosos que, de no manejarse adecuadamente, pueden suponer un riesgo para el trabajador y generar un alto impacto ambiental.

Para mejorar la salud de los trabajadores, es necesario eliminar o minimizar al máximo la exposición a estos químicos peligrosos a través de su reemplazo por alternativas más seguras.

En este sentido os presentamos la guía elaborada por **Salud sin daño (www.saludsindanio.org)**, que pretende ser una herramienta sencilla para la puesta en marcha de un plan de 6 pasos, para la sustitución de químicos peligrosos utilizados en el ámbito profesional del cuidado de la salud, así como para el manejo seguro de aquellos que aún no puedan ser sustituidos.

El plan incorpora elementos que nos han gustado mucho, por su carácter tremendamente práctico y aplicativo, como:

- Establecer un compromiso para la sustitución de los productos peligrosos.
- Elaborar un catálogo de los productos utilizados.
- Dictaminar un programa (fechas y compromisos) de sustitución, incluyendo la política de compras.
- Implantar un ciclo de mejora (idea-ejecución-efecto).

- Facilitar incluso materiales para educación y sistemas de concienciación.

Entre los productos que trata de manera específica, nos han gustado:

- Glutaraldehído; incluye una revisión de motivos por los que debe sustituirse y postula al peróxido de hidrógeno como sustituto.
- Uso de limpiadores y su efecto en la calidad del aire interior; propone mejoras en los sistemas de limpieza e incluye referencias a búsqueda de alternativas "verdes" y sobre protección de trabajadores de limpieza (del CDC-NIOSH, Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional, en español).
- Citostáticos y medicamentos caducados; igualmente ofrece numerosos recursos y enlaces para mejorar este tema.
- Gases anestésicos.

En resumen, una guía con mucha información y referencias que puede ayudar en la tarea de sustituir lo peligroso, enfocada al ámbito hospitalario pero que tiene indudable valor en nuestras instalaciones. Ya no hay excusa para no animarse.

BIBLIOGRAFÍA

- https://ws003-universitatpolit.netdna-ssl.com/php_preveccionintegral/sites/default/files/noticia/42333/field_adjuntos/guia-quimicos-sept-2015.pdf



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^a
08006 Barcelona

► ¡ Póngase en contacto
con nuestros expertos !

info@jrsiberica.com • Tel: 933 262 888

CUIDADO AL CUIDADO



Hacia un nuevo horizonte

Arantxa Manso Torres y Carolina Navas Jiménez
Centro de Investigaciones Biológicas



Imagen suministrada por la autoría

¡Hola!, somos Arantxa y Carolina y llevamos trabajando con ratones en el animalario del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) casi dos años. Cuando Dani (el responsable de esta sección) nos propuso escribir algo para la revista, no le prestamos atención, ¿qué podíamos aportar teniendo tan poca experiencia? Una –Arantxa– viene de trabajar con microorganismos haciendo PCR, y la otra –Carolina– de trabajar con insectos plaga, en un laboratorio. Para nosotras, empezar a trabajar con ratones supuso un gran cambio y un gran reto personal.

Cuando empiezas una actividad que despierta tanta reflexión y controversia social, sobre los problemas éticos que supone la experimentación animal; es imposible salir airosa, porque efectivamente hay mucho que mejorar. La existencia de normativas, comités éticos, y un marco legal que regulariza la actividad, dónde el bienestar animal ocupa un lugar destacado, ayuda mucho, y desde luego, quieres aportar tu pequeña contribución.

CUIDADO AL CUIDADO

Buena parte de nuestra jornada laboral transcurre dentro de las salas (experimental y barrera). Lo primero que llama la atención es la cantidad de ratones que hay y te preguntas... ¿todos son necesarios? En principio la respuesta debería de ser sí, pero son muchos los días que practicamos eutanasia en ratones que no han sido incluidos en procedimientos experimentales. ¿Qué pasa con el principio de reducción? ¿No estamos haciendo bien las cosas?... La teoría dice que estos ratones están dentro de proyectos que han sido rigurosamente evaluados, donde se vela por el empleo del menor número necesario (y en muchos casos seguro que es así), pero el excedente de animales sigue siendo muy alto a nuestro modo de ver. El RD 53/2013 contempla la obligatoriedad de publicar anualmente información estadística sobre los animales de experimentación utilizados en España, pero los informes reflejan los casos donde se utilizan animales, no el número total de animales criados para experimentar.



Imagen suministrada por la autoría

Ya desde el primer día, los ratones te gustan, y como cuidadoras, intentamos darles la mejor vida posible como: procurar mantener en las cubetas grupos estables con enriquecimiento ambiental variado, intentar que los cruces sean los mínimos necesarios para tener los ratones que nos piden, y (dentro de nuestro deber) detectar síntomas de dolor, sufrimiento, estrés o enfermedad, donde la observación diaria de su estado normal es un buen indicador. En esto último, evaluando la forma de moverse, posturas encorvadas, pelo erizado, ojos rasgados, inactividad... nos sugieren signos indicativos de problemas; así por ejemplo un problema de maloclusión supone

un corte de dientes más o menos frecuente, una herida producida por picores y un rascado excesivo implica poner una crema para aliviar los síntomas, un postoperatorio necesita de una vigilancia tras la intervención y un aumento de analgesia si fuese necesario. Afortunadamente, en nuestro animalario hay dos veterinarias dispuestas a ayudarte y a poner medidas si son necesarias.



Imagen suministrada por la autoría

Si nos preguntasen qué es lo que más nos gusta del trabajo... diríamos que los ratones, aunque nuestro deseo sería ir viendo una reducción real en el número de animales y un reemplazo efectivo. Mientras tanto seguiremos cuidando el bienestar animal y sintiendo una enorme gratitud por unos animales que tanto nos dan.

Mil gracias a todo el equipo del animalario por ser tan acogedores con nosotras y habernos enseñado tantas cosas, y especialmente a Tomás por su apoyo constante, por confiar en nosotras y por ser tan buen tutor.



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

Probióticos y prebióticos: implementar la salud desde la microbiota

Josep Maria Marimon Escudé

Centros Científicos y Tecnológicos de la Universitat de Barcelona

En el número anterior expusimos los riesgos de las resistencias antimicrobianas y las posibles alternativas que tenemos a la utilización de antibióticos. Entre estas alternativas están el uso de probióticos y prebióticos para prevenir y/o combatir problemas microbianos, principalmente, en el tracto gastrointestinal, aunque también se han descrito efectos muy positivos en otras localizaciones como puede ser el sistema genitourinario e incluso a nivel sistémico.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO, del inglés *Food and Agriculture Organization of the United Nations*), los probióticos se pueden definir como aquellos microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del hospedador. Este concepto incluye bacterias, hongos y levaduras, que se pueden suministrar como cultivos de un solo organismo aislado o como cócteles de varios organismos, y su efecto consistiría principalmente en una exclusión competitiva de manera que promoverían de forma positiva la microbiota digestiva, y protegerían contra la colonización de bacterias dañinas y enteropatógenos, así como a su vez estimularían (o modularían) la respuesta inmune. Los organismos más utilizados como probióticos son varias especies de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, la levadura *Saccaromyces cerevisiae* y especies de los géneros *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Bacillus* entre otros.

Así mismo, se define a los prebióticos como aquellos ingredientes alimentarios no digeribles que afectan de forma específica al hospedador, estimulando de manera selectiva el crecimiento y/o la actividad de un número limitado de bacterias en el colon y provocando, de esta manera, un efecto beneficioso en la salud del hospedador. En 2007, la FAO publicó una lista de las sustancias más comunes consideradas prebióticas como son la inulina, los fructooligosacáridos y los galacto-oligosacáridos entre otros.

Algunos prebióticos proporcionan una ventaja competitiva a miembros de la microbiota nativa tales como Bifidobacterias y Butirovibrios, provocando una exclusión competitiva frente a posibles agentes patógenos, pero el uso de probióticos y prebióticos puede realizarse bajo una estrategia conjunta denominada

simbiótica, en la que mezclamos a determinadas especies probióticas con aquellas sustancias prebióticas que sabemos que van a favorecer su desarrollo y actuación, de esta manera aumentamos el efecto beneficioso de ambas.

En este sentido es habitual la utilización conjunta de prebióticos y probióticos para el tratamiento de la alteración patológica de la flora nativa conocida como disbiosis, esta alteración se ha relacionado con muchos problemas de salud no sólo a nivel gástrico, sino también a nivel sistémico como por ejemplo en la diabetes tipo 2.

Es importante tener en cuenta a la hora de seleccionar los probióticos que serán administrados oralmente, por lo que para que puedan tener efectos beneficiosos deben de poder resistir las condiciones ambientales del aparato digestivo como son el efecto microbicida de la saliva, la acidez gástrica y los efectos de las sales biliares y las enzimas pancreáticas.

Una vez en el intestino, los probióticos actuarán ejerciendo diferentes efectos a este nivel como puede ser la competición por los nutrientes o la excreción de determinados metabolitos que pueden inhibir el crecimiento de cepas con capacidad patógena (ver Figura 1).

EFFECTOS DE LOS PROBIÓTICOS

1. Competición por los nutrientes ante las cepas patógenas y oportunistas.
2. Estimulación y/o modificación del sistema inmune del hospedador.
3. Inhibición de la adherencia de los patógenos a las mucosas y epitelios.
4. Producción de metabolitos con efecto microbiano, como:
 - Ácidos (láctico, acético, propiónico y butírico)
 - Bacteriocinas (péptidos con efecto bactericida)
 - Agua oxigenada
5. Efecto neuromodulador (eje intestino-cerebro).

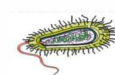


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Efectos de los probióticos en el organismo hospedador.

Control sanitario

Parece ser que los efectos de los probióticos se extienden a nivel sistémico y se ha visto que pueden tener un efecto beneficioso sobre patologías como la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 o el cáncer. En el caso del cáncer, el papel anticarcinogénico de los probióticos podría venir determinado por su capacidad de inmunomodulación y por la disminución de secreción de determinadas enzimas microbianas (p. Ej. β -glucuronidasas y nitroreductasas) involucradas en la síntesis o activación de carcinógenos, genotóxicos y promotores tumorales, así como por la estimulación de la síntesis de enzimas protectoras como la glutatión transferasa.

El uso de probióticos no se considera exento de riesgos pues en determinadas situaciones se ha descrito la aparición de infecciones e incluso bacteriemias a partir de organismos probióticos, en concreto en casos de pacientes con inmunosupresiones muy severas y generalmente relacionadas con determinadas especies. En este sentido muchas de las especies de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* se consideran avirulentas y están incluidas en la categoría GRAS (del inglés *Generally Recognized As Safe*) de la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos de América y en la categoría QPS (del inglés *Qualified Presumption of Safety*) de la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria (EFSA, del inglés *European Food Safety Authority*), mientras que por el contrario, hay algunos miembros del género *Enterococcus* que se consideran patógenos oportunistas.

Otro posible riesgo asociado al uso de los probióticos es la presencia de resistencias a los antibióticos en determinadas especies de estos organismos (ver Figura 2). En algunos casos estas resistencias pueden constituir una ventaja si las utilizamos asociadas al uso de antibióticos para combatir a agentes patógenos, como en el caso de algunas cepas del género *Bifidobacterium* que presentan de manera intrínseca (y no transmisible) resistencias a antibióticos como la ciprofloxacina, la estreptomycin o los aminoglucósidos.

Pero por otro lado, hay determinadas resistencias microbianas que se han demostrado adquiridas y dentro de este tipo las que suponen un riesgo mayor son aquellas que se encuentran en lugares transmisibles como los plásmidos, transposones o profagos de estos microorganismos. Por ejemplo, se ha demostrado en ratón la transmisión de un plásmido que confiere resistencia a la vancomicina, entre *Enterococcus faecium* y *Lactobacillus acidophilus* que son dos probióticos. También se ha detectado la presencia en transposones de genes de resistencia a las lincosamidas, macrólidos y tetraciclinas en algunas especies del género *Bifidobacterium*, de manera que debemos tener ciertas precauciones a la hora de utilizar probióticos y en cualquier caso deberíamos estar seguros de usar sólo aquellos que están testados y no poseen este tipo de resistencias transmisibles.

Otros posibles riesgos derivados del uso de los probióticos son la producción de metabolitos indeseables que pueden provocar reacciones adversas (p. Ej. el ácido D-láctico o las aminos biógenas), la excesiva inmunoestimulación o inmunodepresión en individuos sensibilizados e incluso los efectos adversos derivados de los excipientes que componen su formulación (p. Ej. lactosa), en este último caso cabe resaltar que estos productos comercializados deben cumplir con los requerimientos de un correcto etiquetado según la normativa vigente.

El uso de probióticos y prebióticos se nos presenta como una herramienta terapéutica muy interesante para substituir o complementar algunos de los tratamientos con antibióticos, pero como hemos podido ver no está exenta de riesgos, necesitamos un vasto conocimiento del ecosistema intestinal, así como de las relaciones existentes entre los miembros de las diferentes especies que lo habitan y su relación con el organismo del hospedador para garantizar un uso correcto de los mismos.

Por otro lado, es imprescindible también, antes de su comercialización, evaluar la seguridad de éstos, sobre todo en el caso de los probióticos, teniendo en cuenta el tipo de microorganismo, la forma de administración, el nivel de exposición y el estado de salud del hospedador, así como las funciones fisiológicas que pueda desempeñar ese microorganismo en el interior del hospedador.

RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN LOS ORGANISMOS PROBIÓTICOS

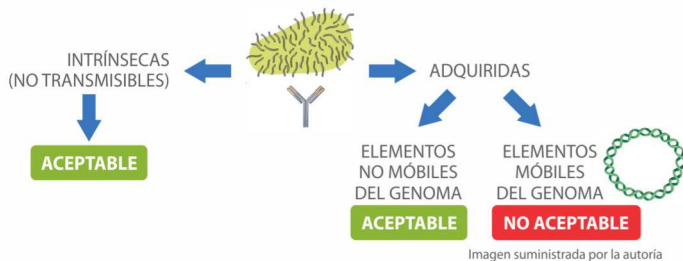


Figura 2.- Resistencias a los antibióticos que pueden presentar los microorganismos probióticos y que los hacen susceptibles de ser o no utilizados como herramienta terapéutica.

BIBLIOGRAFÍA

- Burns A.J. and Rowland I.R. *Anticarcinogenicity of probiotics and prebiotics*. *Curr Issues Intest Microbiol*. 2000;1(1):13-24.
- Callaway T.R., Edrington T.S., Anderson R.C., et al. *Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease*. *Anim Health Res Rev*. 2008;9(2):217-25.
- Ducatelle R., Eeckhaut V., Haesebrouk F., et al. *A review on prebiotics and probiotics for the control of dysbiosis: present status and future perspectives*. *Animal*. 2015;9(1):43-8.
- Floch M.H. *Probiotics and Prebiotics*. *Gastroenterol Hepatol*. 2014;10(10):680-1.
- Hajishengallis G., Darveau R.P., and Curtis M.A. *The Keystone pathogen Hypothesis*. *Nat. Rev. Microbiol*. 2012;10(10):717-25.
- Imperial I.C. and Ibane J. *Addressing the Antibiotic Resistance Problem with Probiotics: Reducing the Risk of Its Double-Edged Sword Effect*. *Front in Microbiol*. 2016;7:1983.
- Nami Y., Haghshenas B., Abdullah N., et al. *Probiotics or antibiotics: future challenges in medicine*. *J Med Microbiol*. 2015;64:137-46.
- Ouwehand A.C., Forssten S., Hibberd A.A., et al. *Probiotic approach to prevent antibiotic resistance*. *Ann Med*. 2016;48(4):246-55.
- Reid G. *Extra Intestinal Effects of Prebiotics and Probiotics*. In: *Prebiotics: Development and Application*. Edited by G.R. Gibson and R.A. Rastall. 2006. Chapter 9. p.201-12. John Wiley & Sons, Ltd.
- Rodríguez J.M. *Probióticos: del laboratorio al consumidor*. *Nutri Hosp*. 2015;31(1):33-47.
- Wray C. and Davies R.H. *Competitive exclusion-an alternatives to antibiotics*. *Vet J*. 2000;159(2):107-8.
- Zheng M., Zhang R., Tian X., et al. *Assessing the Risk of Probiotic Dietary Supplements in the Context of Antibiotic Resistance*. *Front Microbiol*. 2017;8:908.



PUBLICA TUS
ARTÍCULOS EN
NUESTRA REVISTA.
CONTÁCTANOS

publicidad.revista@secal.es



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

Protocolo anestésico en modelo animal porcino de cirugía cardiaca con circulación extracorpórea

Nerea Marín Izquierdo y Viviana Bisbal Velasco

Servicio de Animalario. Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, España

INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha existido un incremento de pacientes sometidos a cirugía cardiaca, siendo el daño miocárdico perioperatorio la causa más frecuente de morbilidad y mortalidad a pesar de ser una cirugía técnicamente exitosa.

Uno de los principales avances quirúrgicos es el soporte de circulación extracorpórea (CEC) permitiendo trabajar en un campo exangüe y realizar así, las principales cirugías cardiacas entre las que se incluyen anastomosis coronarias, implantes de anillos mitral y tricúspide, miectomías septales, sustituciones de aortas ascendentes, reparaciones valvulares e implantes de prótesis aórticas. El soporte de CEC implica que la sangre pasa por una bomba de circulación extracorpórea, también llamada "corazón-pulmón" que asegura la perfusión tisular y permite un equilibrio entre el aporte y el consumo de oxígeno en los tejidos. De esta forma, la bomba CEC (ver Figura 1) realiza el bombeo sanguíneo a los tejidos que haría el corazón y el intercambio gaseoso de los pulmones.

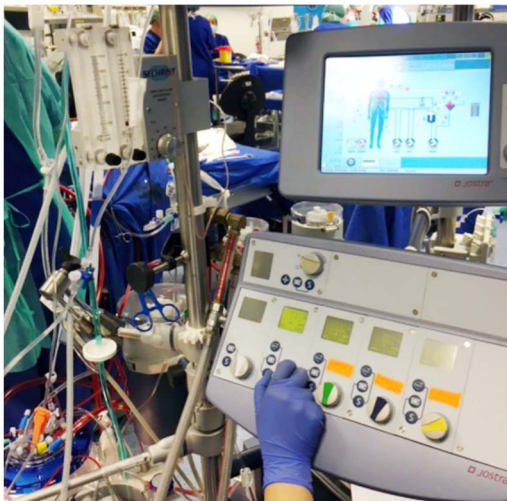


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Bomba de circulación extracorpórea.

Para poder realizar la técnica de CEC es necesario el pinzamiento aórtico, para impedir el llenado de las arterias coronarias, y la infusión de una solución de cardioplejia que paraliza el corazón y produce el enfriamiento de este para disminuir su metabolismo. A su vez, es necesario mantener perfundido el resto del organismo, por ello la máquina transporta la sangre desde la aurícula derecha a un recipiente llamado oxigenador, donde la sangre se enriquece de oxígeno y tras pasar los filtros oportunos es devuelta al organismo.

Por otra parte, para adquirir las destrezas necesarias en la realización de estas complejas técnicas quirúrgicas y el mantenimiento en soporte de CEC es necesario utilizar modelos animales compatibles tanto por la anatomía como por el tamaño de los órganos y la friabilidad de los tejidos. Así, para el desarrollo de estas cirugías en las que describimos su protocolo anestésico y analgésico, se utilizaron cerdos Large-White de 40-45 kg de peso en función de la técnica a desarrollar.

CONSIDERACIONES TÉCNICAS DE LA CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA

La técnica de CEC puede llevar al desarrollo del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y activar la cascada de coagulación causando efectos deletéreos en los pacientes. Esta respuesta es debida principalmente a la hemodilución, la hipotermia y el contacto de la sangre con superficies no biológicas como los circuitos de la bomba CEC. También pueden tener lugar eventos de isquemia-reperfusión resultado del pinzamiento aórtico y endotoxemias¹.

Los objetivos en la anestesia con CEC deben incluir la optimización de la oferta/demanda de O₂ del miocardio, el mantenimiento de la contractibilidad cardiaca y la optimización de las resistencias vasculares periféricas y pulmonares. Se deben también evitar alteraciones de ritmo con efecto negativo en los parámetros anteriores.

Por ello, la monitorización hemodinámica juega un papel indispensable para el mantenimiento y control adecuado del paciente. En el periodo *pre-bypass*, se deben monitorizar unos parámetros mínimos registrados en monitores multiparamétricos (ver Figura 2): electrocardiograma (ECG), frecuencia cardíaca (FC), saturación periférica de oxígeno (SpO₂), frecuencia respiratoria (FR), concentración espirada de dióxido de carbono (EtCO₂), volumen corriente o tidal (VT), volumen minuto (VM), presión pico (Ppico), presión meseta (Pmeseta), presión al final de la espiración (PEEP), complianza (distensibilidad o extensibilidad pulmonar; Cdyn) y presión arterial invasiva o directa (PAI; sistólica, diastólica y media). En el periodo *bypass*, el soporte y la monitorización se realizan a través de la bomba de CEC, de la realización de gasometrías y del control de la producción de orina chequeando así todos los parámetros de una forma adecuada ya que no podremos observar parámetros como FC, FR, EtCO₂ y no habrá volúmenes ni presiones ventilatorias.



Imagen suministrada por la autora

Figura 2.- Monitorización hemodinámica y ventilatoria.

Otras consideraciones para tener en cuenta son las diferentes técnicas de protección miocárdica, ahorro de hemoderivados o perfusión cerebral anterógrada que realizan los perfusionistas y que influyen en gran medida en la evolución del paciente y en el destete de la bomba de CEC.

La protección miocárdica es una práctica diaria tanto en el tratamiento quirúrgico como en el médico con el objetivo de evitar el daño miocárdico por isquemia reperfusion y entre las diferentes técnicas, la cardioplejia o cese de la actividad cardíaca es una de las principales. Se utilizan diferentes soluciones cardiopléjicas cuyo propósito es reducir la actividad metabólica del miocardio durante los periodos de isquemia, enlenteciendo la acidosis intracelular y el exceso de calcio en el citosol del miocito. Además, se interrumpe la actividad eléctrica y mecánica del corazón reduciendo sus necesidades metabólicas.

Existen diferentes tipos de soluciones cardiopléjicas entre las que encontramos la cardioplejia del nido, la miniplejia, y la cardioplejia sanguínea fría anterógrada y retrógrada. La composición de las soluciones cardiopléjicas es variada, pero entre sus principales componentes se encuentra el cloruro potásico a diferentes concentraciones, el sulfato de magnesio, la lidocaína, el calcio, el sodio e incluso el triptófano.

También se utiliza la hipotermia como medida protectora, ya que descensos de temperatura corporal a 28°C disminuyen un 50% los requerimientos de O₂ y por cada grado centígrado que disminuimos, se disminuye el consumo de O₂ un 7%².

Por otra parte, la cirugía cardíaca ocasiona profundos cambios fisiopatológicos que incluyen alteraciones hemostáticas debido al uso de heparina, consumo de factores de coagulación, hemodilución excesiva, hipotermia y fibrinólisis, por citar algunos, con un elevado riesgo de pérdidas sanguíneas perioperatorias. Estos fenómenos ponen en riesgo al paciente y obligan a trasfunder sangre o hemoderivados incrementando la morbilidad y mortalidad, a la vez que predisponen a numerosas complicaciones.

A su vez, antes de la entrada en bomba de CEC se realiza una hemodilución normovolémica, una extracción de sangre total mientras se restaura el volumen sanguíneo circulante con soluciones cristaloides o coloides poco antes de una pérdida sanguínea quirúrgica que se prevé significativa. Cuando hemodiluímos al paciente se activan mecanismos compensadores como el aumento del gasto cardíaco, el aumento

Anestesia y analgesia

de la extracción tisular de oxígeno o cambios en la afinidad de la hemoglobina².

Los pacientes sometidos a la CEC desarrollan frecuentemente una sobrecarga hídrica, así como alteraciones electrolíticas. Además, el contacto con superficies no endoteliales y el propio trauma quirúrgico promueven el aumento de la permeabilidad capilar con el consecuente desplazamiento de agua al tercer espacio, lo que puede producir edema pulmonar y cerebral provocando hipertensión cerebral, fallo renal, etc.

PROTOCOLO ANESTÉSICO Y ANALGESICO

Previa administración de los fármacos es importante revisar los equipos y tener todo el material necesario preparado, incluidas drogas con acción cardiovascular como atropina, adrenalina, lidocaína, noradrenalina y vasopresores (dopamina, dobutamina o fenilefrina) sin olvidar los fluidos isotónicos e hipertónicos o coloidales.

El protocolo anestésico en cirugía cardíaca con CEC, incorpora nuevas fases a tener en cuenta desde el punto de vista farmacológico y hemodinámico (ver Tabla 1).

1. Premedicación

Los cerdos son animales que se estresan con mucha facilidad sobre todo en la manipulación, por lo que es muy importante realizar esta fase de forma adecuada. Unido a éste, los animales van a sufrir estrés quirúrgico, por lo que debemos minimizarlo al máximo.

Los animales se aclimataron a la instalación durante al menos unas 48-72 horas antes de cualquier manipulación. El ayuno de sólidos, para evitar neumonía por aspiración, fue de 6-8 horas, no siendo necesario el ayuno de líquidos.

Para favorecer la manipulación y la preparación del animal se administraron 10 mg/kg de ketamina, 0,1 mg/kg de dexmedetomidina y 2 mg/kg de azaperona por vía intramuscular (IM). La terapia analgésica equilibrada, o balanceada, se inició con la administración de 1 mg/kg de Morfina IM.

La ketamina, agente anestésico disociativo y potente analgésico, posee efectos estimulantes del sistema cardiovascular: incrementa la frecuencia cardíaca y la contractibilidad, por tanto, incrementa el gasto cardíaco. Por otra parte, su asociación con diversos sedantes reduce dichos efectos y

lo hace un fármaco más adecuado. Así, en esta fase preparatoria del animal, el uso de la ketamina junto con sedantes que contrarresten sus efectos negativos puede ser muy adecuado ya que permite una inmovilización adecuada.

Se combinó con dexmedetomidina, un sedante agonista α_2 -adrenérgico, y azaperona, una butirofenona para contrarrestar los efectos de la ketamina y favorecer la sedación e inmovilización necesaria. La dexmedetomidina produce sedación, analgesia moderada y relajación muscular, y la azaperona únicamente sedación y cierta relajación muscular. Ambas presentan un efecto cardiovascular dosis dependiente. La dexmedetomidina, se caracteriza por una fase inicial de vasoconstricción, aumento de PA y bradicardia refleja, y continúa con una fase caracterizada por disminución del tono simpático, de la FC y la PA. La azaperona, por su parte, también produce una disminución significativa de la FC y la PA, aunque la disminución de la PA no es dosis dependiente y tiene cierto efecto antiarrítmico^{3,4}.

Es cierto que ambos sedantes tienen efectos importantes a nivel cardiovascular estando por ello contraindicados en pacientes con patología cardíaca, pero hay que tener en cuenta que nuestros pacientes son pacientes sanos sometidos a una cirugía cardíaca. Si los animales tuvieran una cardiopatía a resolver por medio de CEC el protocolo de sedación debería modificarse combinando ketamina con un sedante con mínimos efectos cardiovasculares como las benzodiazepinas. La morfina como opioide puro agonista μ produce depresión cardiovascular y respiratoria dosis dependiente, pero la utilización de estos fármacos sigue siendo base en la analgesia equilibrada. Puede utilizarse por diferentes vías y combinado con diferentes fármacos, y reduce los requerimientos anestésicos⁵.

Una vez sedado e inmovilizado se canularon dos venas auriculares y se inició con la fluidoterapia de cristaloides (Ringer Lactato o NaCl 0,9%) a dosis de soporte (2 ml/kg/h).

Durante esta fase se preoxigenó a los animales con mascarilla y oxígeno al 100%. También se realizó monitorización de la frecuencia cardíaca y de la saturación de oxígeno mediante pulsioximetría.

2. Inducción

El objetivo de esta fase es obtener una buena profundidad anestésica sin una gran variación en la PAM o en la frecuencia cardíaca (FC) a pesar de los estímulos simpáticos, para mantener una relación óptima entre el aporte de oxígeno (DO_2) y el

consumo de oxígeno (VO_2) del miocardio y demás tejidos⁶. Si mantenemos un gasto cardíaco (Q o CO) estable y el nivel de hemoglobina (Hb) y la saturación arterial de oxígeno ($SatO_2$) son adecuados, aseguramos el DO_2 .

Así, se decidió optar por la inducción con propofol intravenoso (IV) a dosis efecto siendo suficiente una dosis inferior a 1 mg/kg. El propofol es un hipnótico utilizado habitualmente en inducción por su rápido efecto, inconsciencia en 30-60 segundos, y su rápido metabolismo. De hecho, debido a sus propiedades es uno de los hipnóticos inyectables más utilizados también en infusión continua. Por otra parte, su administración en inducción debe ser lenta para evitar hipotensión arterial que puede asociarse a su administración en bolos. Incluso en infusión continua durante la CEC produce disminución de las RVS pudiendo ser necesarios flujos más altos para mantener una PAM adecuada. A su vez, en fallo del ventrículo derecho es idóneo para disminuir la postcarga por su efecto vasodilatador y un posible efecto sobre la complianza (C_{dyn}) del ventrículo derecho. A nivel cerebral también disminuyen los requerimientos metabólicos del O_2 ^{6,7}.

En esta fase no es habitual el requerimiento de fármacos vasoactivos ni el aporte importante de líquidos endovenosos, que aumentarían la hemodilución que producirá el "cebado" de la bomba de CEC.

Tras la ausencia de reflejos palpebrales y laríngeo y tras instilación de lidocaína local se realizó la intubación con tubos endotraqueales de 7-7,5 mm de diámetro y se conectó a la máquina anestésica para continuar con la fase de mantenimiento.

3. Mantenimiento

En esta fase de mantenimiento anestésico se realizaron diversas técnicas necesarias para el buen desarrollo de la cirugía cardíaca.

Se canuló la arteria femoral por medio de la técnica de Seldinger como vía central para monitorización de la presión arterial y obtención de muestras sanguíneas (véase sección de monitorización).

Para el control de la diuresis se realizó una cistocentesis y se conectó a un sistema de recogida urinaria.

El control del dolor se realizó mediante la administración de una infusión continua combinando morfina, lidocaína y ketamina,

conocido popularmente como *milk* o MLK. Las dosis fueron 0,6 mg/kg/h, 3 mg/kg/h y 0,24 mg/kg/h respectivamente, tras una dosis de inducción (M 0,6 mg/kg, L 3 mg/kg y K 0,24 mg/kg) administrada entre 4 y 15 minutos. La ketamina actúa sobre los receptores NMDA generando analgesia. A su vez, la combinación de ketamina con morfina en infusión continua permite conseguir mayor efecto analgésico y también se ha visto una reducción de la CAM en el intraoperatorio. La adición de lidocaína aporta diversos beneficios entre ellos, incrementa el efecto analgésico y sedante⁵. La reducción de la CAM se ha observado en perros y en caballos en los que se ha estudiado el protocolo MLK, pero no ha sido demostrada en cerdos⁸ aunque en el protocolo tratado en este estudio publicado se utilizaron niveles de CAM relativamente bajos, entre 0,9-1,1% vol, en los 16 animales del programa. Si bien es cierto que estos datos no han sido analizados en los animales utilizados para generar este protocolo anestésico.

Periodo PreCEC

Durante esta fase, los cirujanos realizan la esternotomía y canulación de los accesos arteriales y venosos oportunos según la técnica quirúrgica a desarrollar para poder conectar con la bomba de CEC (ver Figura 3).

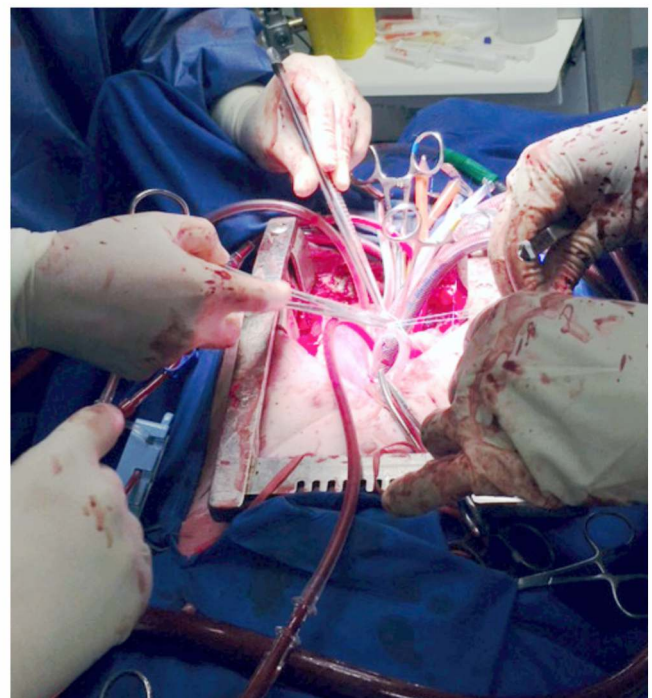


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Canulación vasos para CEC.

asociado. Este no era nuestro caso, por lo que una vez en bomba, la anestesia fue mantenida con infusión continua de propofol unido al soporte analgésico del MLK. De esta forma, reducíamos los requerimientos anestésicos del propofol a la vez que implementábamos una analgesia balanceada.

La utilización de relajantes musculares, habitual en medicina humana, no fue necesaria.

Salida de CEC

En esta fase, el animal ya no recibe más cardioplejia y se realiza el destete de la bomba. Durante el destete, el relleno ha de ser progresivo y muy lento administrando de 25 a 50 ml, alcanzando cifras de $P_{sistólica}$ de 100 ± 10 mmHg, para evitar una sobredilatación y el consecuente fallo cardiaco. También se reinicia la fluidoterapia a dosis de mantenimiento y la ventilación mecánica con O_2 al 100%².

Tras la estabilización hemodinámica se realiza la reversión de la heparina con protamina a dosis de 1-1,3 mg por cada mg de heparina administrada y se revisa el ACT por si fuera necesario administrar plaquetas⁹.

Es muy probable que se produzcan arritmias incluso extrasístoles que deberán ser tratadas con los oportunos antiarrítmicos como lidocaína, noradrenalina, atropina y adrenalina entre otros.

Si existiera sangrado difícil de controlar, con hipotensión severa y/o arritmias a pesar de utilizar fármacos inotropos, hay que volver a entrar en bomba y plantearse la utilización de dispositivos de asistencia. En ocasiones es necesaria aplicar una desfibrilación o realizar toques de marcapasos sobre la musculatura cardiaca para reactivar la actividad eléctrica del corazón.

Tabla 1. -Resumen del protocolo anestésico utilizado.

Protocolo anestésico utilizado	
Inmovilización química	Ketamina (10 mg/kg) + Dexmedetomidina (0,1 mg/kg) + Azaperona (2 mg/kg) intramuscular (IM)
Preanalgesia	Morfina (1 mg/kg) IM
Fluidoterapia	Cristaloides (Ringer Lactato o NaCl 0,9%) a flujo de soporte (2 mL/kg/h)
Inducción	Propofol (1 mg/kg) intravenoso (IV)

Mantenimiento anestésico	Anestesia inhalatoria: Sevofluorano (0,9-1,1% vol)
Analgesia intraoperatoria	Morfina, Lidocaína y Ketamina, conocido popularmente como milk o MLK (0,6 mg/kg/h, 3 mg/kg/h y 0,24 mg/kg/h, respectivamente)
Periodo de bomba CEC	100 mg de Fenilefrina en bolo (2,5 mg/kg) IV TIVA (anestesia total intravenosa) de propofol + MLK
Salida de CEC	Destete: - Relleno de volemia progresivo y muy lento administrando de 25-50 ml - Reinicio de la fluidoterapia a dosis de mantenimiento - Ventilación mecánica con O_2 al 100 Reversión de la heparina: protamina (1-1,3 mg / 1 mg heparina) Medicación cardiovascular preparada y cargada: jeringuillas de lidocaína, noradrenalina, atropina y adrenalina, entre otros.

4. Recuperación y Postoperatorio

Una vez ha salido de bomba y ha finalizado la cirugía es muy importante mantener un buen control hemodinámico y ventilatorio (ECG, FC, SpO_2 , $EtCO_2$, PA, etc.) durante las primeras horas para evitar posibles complicaciones.

Debemos centrarnos en el control de la homeostasis que se ve afectada por los cambios fisiopatológicos generados por el uso de la circulación extracorpórea, los fenómenos de isquemia-reperusión en el corazón, la hipotermia, los trastornos en el sistema de coagulación y los efectos adversos de las transfusiones y el sangrado.

En el sistema cardiovascular hay depresión miocárdica con vasoconstricción inicial y luego vasodilatación, episodios de hipertensión o hipotensión sostenidas, trastornos de la conducción y arritmias ventriculares o supraventriculares. Los pulmones pueden tener atelectasias, lesión pulmonar inflamatoria, presencia de líquido residual en las pleuras, disminución en el volumen espiratorio forzado (VEF) y capacidad residual funcional (CRF) y los riñones están hipoperfundidos por la pérdida del flujo pulsátil, la hipotermia y la respuesta inflamatoria secundaria a la CEC.

En resumen, se debe llevar un adecuado control hemodinámico (ECG, PA, gasometría arterial, profilaxis antiarrítmica, etc.), control de la función respiratoria, control de la diuresis y de las posibles hemorragias, sin olvidarnos del dolor postquirúrgico.

MONITORIZACIÓN DEL PACIENTE

Como ya se ha comentado, la monitorización hemodinámica juega un papel imprescindible en cirugías con CEC (ver Figuras 2 y 4).

Las principales complicaciones que nos podemos encontrar son hipoxemia, hipotensión, arritmias (p. Ej. bradicardias, taquicardias, fibrilaciones ventriculares, extrasístoles, etc.), hemorragias y tromboembolismos. La monitorización debe ser dinámica y flexible adaptándola a las necesidades de cada momento. Las complicaciones asociadas a este tipo de cirugía implican que tengamos preparada la medicación correspondiente⁷: anticolinérgicos, vasopresores, antiarrítmicos, dexametasona, bicarbonato, electrolitos y heparina. También se debe tener disponibles bloqueantes neuromusculares por si son necesarios y sobre todo palas para desfibrilación interna.

Electrocardiografía

Para asegurar un buen control de la actividad cardiaca es imprescindible realizar electrocardiografías. A su vez, es necesario un control continuo de la frecuencia cardiaca para detectar situaciones de taquicardia y bradicardia, así como para verificar la asistolia presente en el soporte CEC.

La cirugía cardiaca conlleva la manipulación del corazón lo que va a facilitar la aparición de arritmias durante el proceso previo y posterior a la CEC. Las principales arritmias que nos vamos a encontrar son bloqueos de primer y segundo grado, taquicardias ventriculares, extrasístoles y, si la manipulación es excesiva, puede aparecer fibrilación ventricular siendo necesarias las infusiones de antiarrítmicos y en muchas ocasiones la utilización de un desfibrilador para su resolución.

El fallo ventricular es una de las principales causas de descompensación cardiaca tras el destete de la bomba de CEC y se debe en parte, a los daños por isquemia-reperfusión asociados a la CEC y al fallo cardiaco inducido por la cardioplejia¹. Por ello la monitorización electrocardiográfica es importante realizarla durante y tras la cirugía cardiaca con CEC.

Presión Arterial Invasiva (PAI)

El control de la PAI, concretamente, de forma invasiva es de vital importancia durante la cirugía. Nos permite obtener una medición precisa, continua e inmediata de los valores de presión arterial sistólica, diastólica y media, imprescindibles en este

modelo animal. La utilización de medidores de presión arterial no invasiva no es adecuada en este modelo puesto que las mediciones no son siempre exactas y no son continuas e inmediatas.

Los momentos de entrada y salida en bomba son críticos para la presión arterial. La canulación arterial y venosa previa a entrar en bomba puede conllevar, también, a situaciones de hipotensión que se resuelven en el momento en que los cirujanos dejan de manipular el corazón y permiten un llenado correcto. Si la velocidad en esta fase no está presente es posible que sea necesaria la utilización de vasopresores a dosis baja para evitar un efecto rebote tras la manipulación¹.

¡Es muy importante en este contexto una muy buena comunicación con el cirujano!

Presión Venosa Central (PVC)

El control de la presión venosa central nos permite controlar el balance entre el retorno venoso y la capacidad cardiaca de eyectar el volumen. A su vez, nos permite disponer de un acceso venoso para administración de fluidos a gran velocidad si fuera necesaria.

EtCO₂

En estos pacientes es muy habitual utilizar ventilación mecánica para mantener un buen equilibrio respiratorio y evitar hipercapnias e hipoxemias. El CO₂ espirado nos permite valorar si la ventilación está siendo adecuada o debemos modificar nuestros parámetros para optimizar la respiración. De hecho, la capnometría nos permite valorar tanto la ventilación como la perfusión pulmonar de forma indirecta.

Será necesario mantener una presión al final de la espiración (PEEP) para evitar el colapso de los alvéolos y evitar los problemas asociados a las atelectasias y a la apertura y cierre de los alvéolos de forma repetida¹⁰.

Presión parcial de CO₂ en sangre (PaCO₂)

Tener una vía arterial disponible es importante ya que también se utiliza para la extracción de muestras sanguíneas para valoración de la técnica de perfusión. Estas muestras sanguíneas permiten a los perfusionistas valorar el hematocrito inicial y el tiempo de coagulación, y poder ajustar así la dosis de heparina a administrar antes de entrar en bomba.

También permiten controlar el equilibrio ácido base durante el periodo en el que el animal está en CEC. Durante la fase de CEC el paciente va a ser oxigenado por medio de la bomba, no hay ventilación pulmonar por lo que nuestros monitores ventilatorios no van a obtener datos de capnometría ni capnografía, no habrá curvas ni datos del CO_2 , y la única manera de controlarlo es a través de la medición directa del PaCO_2 a través de gasometría arterial.

Presión parcial de O_2 en sangre (PaO_2)

La realización de una gasometría arterial también nos permitirá obtener datos para poder controlar de forma veraz el oxígeno en sangre (PaO_2) y evitar la hipoxemia, complicación habitual en estas técnicas.

En los periodos anteriores a la CEC el O_2 se mide habitualmente a través de pulsioximetría, obteniendo la SpO_2 , pero la medición más directa y exacta para asegurar una buena oxigenación y ausencia de hipoxia es la medición directa de la PaO_2 . Así la vía arterial invasiva nos permite poder tomar muestras seriadas a lo largo de la cirugía y llevar el control ácido-base de forma precisa.

Temperatura

La hipotermia es siempre un factor a controlar para favorecer la recuperación de los pacientes, pero en esta cirugía hay que tener en cuenta que es una de las técnicas utilizadas para disminuir el consumo de oxígeno del miocardio y, también, como técnica de protección por lo que es importante controlarla bien.

La hipotermia también afecta a la potencia del propofol potenciando su efecto por lo que serán necesarias infusiones menores durante la CEC para mantener una adecuada profundidad anestésica¹¹.

Diuresis

El control de la diuresis es importante de cara a valorar la existencia de daño renal. El control de la perfusión es crítico durante la CEC y puede asociarse a una hipoperfusión renal con el consiguiente daño renal. En humana, la disfunción renal tras circulación extracorpórea se observa en un 60-70% de los casos. De hecho, en ocasiones aparece como daño subclínico y puede derivar a un daño renal irreversible que requiere incluso diálisis^{12,13}.

Profundidad anestésica

La profundidad anestésica asegura un buen grado de hipnosis y amnesia, requisitos para una anestesia adecuada. Pero

durante la CEC, los monitores hemodinámicos y la medición del EtCO_2 están prácticamente ausentes esto dificulta el control del paciente. De hecho, en humana se han reportado casos de despertar intraquirúrgico en estas cirugías¹¹.

Uno de los métodos para controlar la hipnosis y el grado de profundidad anestésica es mediante la utilización del Índice Bispectral o monitor BIS (ver Figura 5). El BIS correlaciona la actividad eléctrica del cerebro, las ondas de electroencefalografía, con un número de forma que podemos valorar objetivamente si existen o no ondas que indiquen hipnosis. De esta forma, y siguiendo la referencia que existe en medicina humana, un paciente está en un grado de hipnosis adecuado para llevar a cabo una cirugía cuando el BIS está por debajo de 60, siendo el 100 la actividad máxima y el 0 la muerte cerebral.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 5.- Monitorización Índice BIS.

Se sabe que la hipotermia disminuye el índice BIS. Por cada grado que desciende la temperatura el BIS baja entre 1-1,2 unidades¹⁴. Por lo que, siendo la hipotermia una de las técnicas de protección miocárdica empleada, es importante verificar el grado de hipnosis del paciente.

AGRADECIMIENTOS

A Javier Benito de la Víbora por su iniciativa y apoyo para la realización de este artículo. Y al equipo de cirugía cardiovascular y perfusionistas y al área de simulación del Hospital Universitario y Politécnico La Fe por confiar en nosotras.

Anestesia y analgesia

BIBLIOGRAFÍA

1. Nussmerier N.A., Sarwar M.F., Searles B.E., et al. *Anesthesia for Cardiac Surgical Procedures*. In: Miller's Anesthesia. Eight Edition. Edited by R.D. Miller. 2014. Chapter 67. p.2007-95. Elsevier.
2. Monfort V. *Estrategias de Perfusión*. In: I Curso Experimental de Técnicas Quirúrgicas Básicas en Cirugía Cardíaca. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. 2018.
3. Lemke K.A. *Anticholinergics and Sedatives*. In: Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. Edited by W.J. Tranquili, J.C. Thurmn, and K.A. Grimm. 2007. Edition 4th. Chapter 9. p.203-40. Blackwell Publishing. Iowa.
4. Swindle M.M. *Anesthesia, Analgesia and Perioperative Care*. In: Swine in the Laboratory. Surgery, Anesthesia, Imaging, and Experimental Techniques. 2007. p.35-80. CRC Press: Boca Raton.
5. Mathews K.A. and Lamont L.A. *Opioids, Nonsteroidal Anti-inflammatories and Analgesic Adjuvants*. In: Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. Edited by W.J. Tranquili, J.C. Thurmn, and K.A. Grimm. 2007. Edition 4th. Chapter 10. p.241-72. Blackwell Publishing. Iowa.
6. Litvan H. *Anestesia durante la circulación extracorporea*. Sección de Anestesiología y Reanimación en Cirugía Cardíaca. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. 2012. p.1-23.
7. Mama K.R. *Anesthesia for Cardiopulmonary Bypass*. In: Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. Edited by W.J. Tranquili, J.C. Thurmn. 2015. Edition 5th. Chapter 24. p.483-9. Wiley Blackwell.
8. Re M., Canfrán S., Largo C., et al. *Effect of Lidocaine-Ketamine Infusions Combined with Morphine or Fentanyl in Sevoflurane-Anesthetized Pigs*. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2016;55(3):317-20.
9. Garví-Lopez M. and Llagunes-Herrero J. *Protocolo de Anestesia en Cirugía Coronaria con Circulación Extracorpórea*. In: Grupo de trabajo SARTD-CHGUV para Cirugía Cardíaca. Servicio de Anestesia y Reanimación Cardíaca. Hospital General Universitario de Valencia. 2009.
10. Fontana F.J. *Circulación extracorpórea en la cirugía de la aorta*. Cirugía Cardiovascular. 2015;22(3):152-5.
11. Barry A.E., Chaney M.A., and London M.J. *Anesthetic management during cardiopulmonary bypass: a systematic review*. Anesth Analg. 2015;120(4):749-69.
12. Facenda A., Romero A., Lima J.M., et al. *Efectos de la circulación extracorpórea sobre el filtrado glomerular en la cirugía cardiovascular pediátrica*. Revista Colombiana de Cardiología. 2011;18(3):169-76.
13. Song Y., Kim D.W., Kwak Y.L., et al. *Urine Output During Cardiopulmonary Bypass Predicts Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery: A Single-Center Retrospective Analysis*. Medicine (Baltimore). 2016;95(22):e3757.
14. Mathew J.P., Weatherwax K.J., East C.J., et al. *Bispectral analysis during cardiopulmonary bypass: the effect of hypothermia on the hypnotic state*. J Clin Anesth. 2001;13(4):301-5.

HAZTE SOCIO BENEFACTOR
TU 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

The
Easy
IVC™

NEXGEN



¡LA GENTE HABLA DE NEXGEN!

La gente habla de NexGen, ¡y lo que cuentan es maravilloso! Cuando comercializamos NexGen, nuestro objetivo era garantizar que se tratara del sistema de jaulas ventiladas individualmente (IVC) más ligero, rentable y fácil de usar del sector de los sistemas de laboratorio automatizados (LAS). Y por los comentarios que nos llegan, ¡lo conseguimos! De hecho, todo este buen feedback es el motivo por el cual llamamos "Easy IVC" a NexGen.

≡ Allentown ≡

Refinamiento en pruebas de conducta en roedores

Garikoitz Azkona Mendoza

Animalario del Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB)

INTRODUCCIÓN

La ética en el uso de animales con fines científicos está basada en el utilitarismo. En este sentido, tanto los investigadores como los miembros de los comités de ética de experimentación animal sopesan en cada experimento tanto los daños para el animal con los beneficios previstos para los seres humanos. El concepto de las 3Rs (Reducción, Reemplazo y Refinamiento) es un marco sólido para minimizar el uso y sufrimiento de los animales (daño al animal) y un medio para apoyar la ciencia de alta calidad y la traslación (beneficio para la sociedad). El conflicto se resuelve, normalmente, analizando cada caso, valorando los daños y beneficios a los animales, o priorizando el refinamiento sobre la reducción (Graham & Prescott, 2015).

Existen muchas pruebas de conducta en roedores que permiten analizar, entre otras, funciones motoras, interacción social, conductas tipo ansiosas o depresivas, o diferentes capacidades cognitivas. Casi todas las pruebas conductuales tienen una complejidad inherente y, en muchas ocasiones, su uso requiere una motivación. La motivación, comúnmente, más utilizada es el miedo. El miedo a ahogarse en la prueba de natación forzada, el miedo a caerse en el *rotarod*, o el miedo al *shock* eléctrico en el aprendizaje de evitación activa. Muchos otros protocolos utilizan el hambre o la sed para motivar al animal a realizar un paradigma, tras someter al animal a una privación temporal (Hånell & Marklund, 2014).

Estos recursos motivacionales entran en conflicto con el bienestar animal. La concienciación sobre el bienestar animal de muchos investigadores, así como los cambios fisiológicos y conductuales inherentes al estrés producidos por ciertos recursos motivacionales, han llevado al diseño, por parte de ciertos grupos de investigación, de pruebas conductuales en las que no es necesario utilizar los recursos motivacionales para analizar la conducta de estudio.

A continuación, se describen diferentes pruebas conductuales en las que el protocolo original incluye un estresor y que han sido validadas evitándolos, con el fin de refinarlas.

PRUEBA DE RESISTENCIA SIN UTILIZACIÓN DE SHOCK

En esta prueba, y una vez habituados a la sala, los animales se colocan en la parte superior de una cinta para correr (*treadmill*, en inglés) en movimiento, en sentido opuesto a la rejilla electrificada y a la dirección del movimiento (ver Figura 1). Si dejan de correr se ven empujados a la rejilla donde reciben una descarga eléctrica (0,4-0,5 mA), por lo que para escapar del estímulo negativo los animales vuelven a la cinta. De esta forma los animales asocian como aversivo dejar de correr.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Cinta corredora o *treadmill* utilizado en ratones para medir la resistencia al ejercicio.

Si bien, es la prueba más utilizada en roedores para medir la resistencia, la conducta de evitación y el estrés psicológico producidos por el *shock* pueden interferir con la cuantificación de la resistencia, la bioquímica sérica y el bienestar animal.

Con el fin de refinar esta prueba, se ha validado este paradigma sin *shock* eléctrico (Conner, Wolden-Hanson, & Quinn, 2014). La evaluación de la hipótesis la realizaron en diferentes sublíneas de ratones C57BL/6, incluidos transgénicos y *knockouts* con este fondo genético. Según su protocolo, tras la aclimatación de los animales a la sala del experimento durante 1 o 2 horas, los ratones se habitúan al aparato. Para ello, los colocaremos sobre la cinta inmóvil 5 minutos, y a continuación otros 5 con la máquina encendida, pero sin movimiento, para que se acostumbren a los ruidos que produce. Tras la aclimatación, se pone en marcha la cinta a una velocidad baja (10 m/min) y el cronómetro. Muchos de los ratones comienzan a correr, aunque siempre hay individuos a los que habrá que forzar mediante empujones suaves ayudados por un palo de madera como los depresores linguales. Cuando el animal esté en lo más alto de la cinta comenzaremos a incrementar la velocidad 1 m/min cada 2 minutos. Hay que determinar la velocidad máxima de carrera sostenida de cada animal, que suele estar entre 14 y 17 m/min en ratones C57BL/6, ajustando la velocidad y observando los animales. Dentro de nuestros grupos experimentales tendremos ratones que no correrán nunca y se descartarán; otros, sin embargo, habrá días que no corran y días en los que sí. Una vez identifiquemos al animal exhausto pararemos el cronómetro. Se define exhausto como tres paradas sucesivas y la renuncia a correr a pesar de insistirle amablemente a lo que se le suman los signos físicos de agotamiento como respiración dificultosa o postura extendida. Los animales se recuperan del agotamiento tras 30-60 minutos. Los datos se pueden representar como el tiempo de agotamiento o la velocidad de carrera sostenida.

La realización de este nuevo protocolo requiere de más tiempo y hay que tener en cuenta que la determinación de la velocidad de carrera máxima sostenida, la resistencia a la ejecución y el punto final del agotamiento son determinados de forma subjetiva por el experimentador. Aún y todo, la mayoría de los ratones jóvenes corren voluntariamente si se aclimatan lentamente al aparato y las muestras de rechazo a correr o el agotamiento suelen ser claras.

PRUEBA DE LA NATACIÓN FORZADA

La natación forzada es una prueba rápida de realizar, muy fiable, sensible y relativamente selectiva para analizar fármacos antidepressivos.

El protocolo original consiste en la introducción del animal en un recipiente de plástico transparente (ver Figura 2) lleno de agua a temperatura y el registro de las diferentes conductas, inmovilidad, natación o escalada, durante los 6 minutos en los que dura la prueba. Tras dos minutos de lucha vigorosa, los animales adoptan una postura de inmovilización, flotando y haciendo movimientos ligeros necesarios para mantener la cabeza fuera del agua, alternando con movimientos de nadar o remar. Este fallo inducido por estrés en la conducta de escape se denomina conducta de desesperación, y ha sido consistentemente prevenida mediante el tratamiento con antidepressivos.



Imagen suministrada por la autora

Figura 2.- Recipientes de plástico transparente en los que se realiza la prueba de la natación forzada.

En ratas los antidepressivos en general reducen la inmovilidad, mientras que los inhibidores selectivos de la recaptación de epinefrina y los antidepressivos tricíclicos incrementan la escalada, y los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina incrementan la natación. Estos cambios permiten en la rata la discriminación del efecto de los antidepressivos de estudio (Detke, Johnson, & Lucki, 1997).

Con el fin de estandarizar y validar estas conductas activas y pasivas, se ha propuesto un análisis para refinar la prueba de natación forzada en ratones *Swiss* (Costa *et al.*, 2013). Para ello sometieron a los ratones a la prueba y anotaron la frecuencia y el tiempo de las distintas conductas. Posteriormente, analizaron los

resultados de los primeros 2 minutos, de los siguientes 4 y el total de los 6 minutos. Los resultados muestran que los antidepresivos tricíclicos (imipramina), los inhibidores de la recaptación selectiva de la epinefrina (desipramina) y de la serotonina (fluoxetina) y los estimulantes del movimiento (cafeína) reducen significativamente la inmovilidad en los dos primeros minutos, por lo que para determinar esta conducta no es necesario someter a los animales a la prueba de 6 minutos. El resto de 4 minutos de la prueba sirve para discriminar el efecto de los antidepresivos y los estimulantes en la actividad motora, ya que los antidepresivos incrementan el tiempo de la escalada, mientras que los estimulantes incrementan el tiempo y la frecuencia.

Estos resultados muestran que la prueba de la natación forzada es un paradigma adecuado para predecir los efectos de los antidepresivos. Sin embargo, con el fin de refinar la prueba y aumentar la predictibilidad es necesario el análisis de los resultados minuto a minuto.

ENTRENAR SIN RESTRICCIÓN DE AGUA

Es frecuente la utilización de comida o agua como recompensa en pruebas de condicionamiento operante que analizan la capacidad sensorial, motora o cognitiva en roedores. El agua como recompensa es muy utilizada en el entrenamiento de comportamientos automáticos y registros electrofisiológicos u ópticos, ya que puede dispensarse con precisión temporal y cuantitativa y es consumida rápidamente con un mínimo movimiento del cuerpo. Sin embargo, es necesario restringir el acceso al agua al animal para que esta pueda ser una recompensa motivadora, con el consecuente estrés y el peligro de deshidratación.

El protocolo de Reinagel propone la acidificación del agua con ácido cítrico al 2% como alternativa a la restricción (Reinagel, 2018). En los experimentos de seguridad realizados en hembras *Long Evans* se determinó que el consumo de agua acidificada cae de 24 ml/día a 12 ml/día, los animales mantienen el 97% del peso inicial, por lo que el efecto en el peso es insignificante, el consumo es suficiente para el correcto desarrollo y es inocuo para la salud.

Para determinar si la disminución del consumo permite la administración *ad libitum* de agua acidificada y su utilización como recompensa motivadora para la realización de experimentos, sometieron a las ratas a una tarea de discriminación de motivación visual (Meier, Flister, & Reinagel, 2011; Petruno, Clark, & Reinagel, 2013) utilizando como recompensa 25 ml de agua sin acidificar. En un paradigma

automatizado en el que las ratas tienen libre acceso las 24 horas del día, sin ninguna otra suplementación de agua, observaron una reducción moderada pero aceptable de pruebas realizadas en aquellas ratas con agua *ad libitum* con ácido cítrico al 2% en comparación con ratas con restricción de agua. Se observaron los mismos resultados en un paradigma con sesiones de 2 horas diarias.

Estos resultados muestran que la administración de agua *ad libitum* con ácido cítrico al 2% permite utilizar el agua como recompensa en pruebas conductuales en rata, eliminando el riesgo de deshidratación accidental que puede ocurrir con la restricción. En ratones no se han publicado estudios sobre este tema, pero sí se ha publicado que la administración de ácido cítrico en el agua al 0,9% no es tóxica (Leandro *et al.*, 2016).

BIBLIOGRAFÍA

- Conner J.D., Wolden-Hanson T., and Quinn L.S. *Assessment of murine exercise endurance without the use of a shock grid: an alternative to forced exercise.* JVis Exp. 2014;(90):e51846.
- Costa A.P., Vieira C., Bohner L.O., et al. *A proposal for refining the forced swim test in Swiss mice.* Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2013;45:150-5.
- Detke M.J., Johnson J., and Lucki I. *Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression.* Exp Clin Psychopharmacol. 1997;5(2):107-12.
- Graham M.L. and Prescott M.J. *The multifactorial role of the 3Rs in shifting the harm-benefit analysis in animal models of disease.* Eur J Pharmacol. 2015;759:19-29.
- Hånell A. and Marklund N. *Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research.* Front Behav Neurosci. 2014;8:252.
- Leandro J.G., Espindola-Netto J.M., Vianna M.C., et al. *Exogenous citrate impairs glucose tolerance and promotes visceral adipose tissue inflammation in mice.* Br J Nutr. 2016;115(6):967-73.
- Meier P., Flister E., and Reinagel P. *Collinear features impair visual detection by rats.* JVis. 2011;11(3):pii:22.
- Petruno S.K., Clark R.E., and Reinagel P. *Evidence that primary visual cortex is required for image, orientation, and motion discrimination by rats.* PLoS One. 2013;8(2):e56543.
- Reinagel P. *Training Rats Using Water Rewards Without Water Restriction.* Front Behav Neurosci. 2018;12:84.

International Product Supplies Limited



Feeding the Innovations of Modern Research

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

TestDiet® Europe

- DIO High Fat Range
- Fenbendazole
- Doxycycline
- Helicobacter
- AIN Series
- Tamoxifen

www.testdiet.com



LabDiet.

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

www.labdiet.com



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

Sodispan Research S.L.

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

La Norma UNE 171400-1:2019 Diseño de instalaciones de Nivel 3 de Contención Biológica (NCB3)

Fernando Usera Mena

Responsable del Servicio de Bioseguridad del Centro Nacional de Biotecnología (CSIC),
Presidente del Subcomité Bioseguridad perteneciente al Comité AEN/CTN171 Calidad Ambiental en Interiores

INTRODUCCIÓN

Desde mediados del siglo XX se ha producido un desarrollo muy significativo en el estudio, control y utilización de los microorganismos que nos rodean. Esto ha sido debido en parte al desarrollo de la investigación biológica y biomédica, a la necesidad del desarrollo de la ganadería y de la agricultura, pero sobre todo a la aparición de la biotecnología moderna.

La biotecnología, o tecnología aplicada a los procesos biológicos, ha existido desde siempre. Sin embargo, la biotecnología, tal como la entendemos actualmente, surge de los primeros hallazgos en biología molecular y utiliza como herramienta la ingeniería genética. De esta forma, se pueden generar nuevos seres vivos, organismos modificados genéticamente que pueden producir ventajas en multitud de ámbitos como: la investigación, la industria farmacéutica, la agricultura, la ganadería, la industria alimentaria, la tecnología de materiales y el sector energético.

Por otra parte, los cambios que el hombre está produciendo en el medio ambiente y los procesos de globalización están dando lugar a enfermedades emergentes, debidas a la aparición de nuevos patógenos o al cambio de tropismo de patógenos ya existentes; y a enfermedades reemergentes, enfermedades que de nuevo tienen prevalencia en áreas geográficas donde la habían perdido.

Todo lo indicado, hace que cada vez sea más necesario el trabajo con microorganismos, tanto silvestres como modificados genéticamente. En las actividades de investigación sobre estos microorganismos, su caracterización, selección, diagnóstico, producción, etc. puede existir riesgo biológico. Por ello, estas actividades deben realizarse en instalaciones de contención donde, por un lado, se reduzca hasta un nivel asumible el riesgo para el personal expuesto; y por otro, se evite la posibilidad de exposición de terceros y se impidan daños en el medio ambiente. En concreto,

desde finales del siglo XX se ha producido un aumento notable en la utilización de agentes biológicos del grupo de riesgo 3 y de organismos modificados genéticamente (OMG) en actividades de utilización confinada de tipo 3, lo que ha dado lugar a la proliferación de instalaciones de nivel 3 de contención biológica (NCB3). Sin embargo, se puede observar que estas instalaciones son heterogéneas en muchos casos, no respondiendo a un criterio claro en su diseño. Es por ello por lo que una de las primeras iniciativas del subcomité de Bioseguridad de UNE (AEN/CTN 171/SC Bioseguridad), cuando se creó en 2012, fue la obtención de una norma para instalaciones NCB3 que estableciera un concepto claro de diseño y que además sirviera de guía en el proceso técnicamente complejo de obtención de dicho diseño.

GESTIÓN DEL DISEÑO DE INSTALACIONES NCB3

El diseño de las instalaciones NCB3 es complejo y si no existe un concepto claro sobre las medidas de contención a utilizar, en función del tipo y magnitud del riesgo biológico en cada contexto, se pueden producir situaciones no deseadas en las que no se reduzca adecuadamente el riesgo o, por el contrario, en las que se magnifique el riesgo utilizándose medidas de contención innecesarias.

En la Unión Europea, y en concreto en España, existen normativas que regulan tanto el uso de agentes biológicos desde el punto de vista de prevención de riesgos laborales en relación con el uso de patógenos humanos (Real Decreto 664/1997); como desde el punto de vista de salud pública y protección del medio ambiente, en relación con la generación y uso de OMG (Real Decreto 178/2004). En ambos reglamentos se establecen en –función de la magnitud del riesgo– cuatro niveles de contención o confinamiento, y para cada uno de ellos se determinan unos requisitos mínimos generales de contención.

En ambas normativas se propugna la evaluación de la naturaleza y magnitud del riesgo biológico como única vía para

establecer el nivel de contención necesario en una determinada instalación. En el proceso de evaluación del riesgo biológico se habrán de valorar tres aspectos fundamentales: las características intrínsecas del material biológico a utilizar, las técnicas y actividades a desarrollar en la instalación y las características del personal expuesto, fundamentalmente en cuanto a situación sanitaria, formación y experiencia laboral (Guía Técnica para la evaluación y prevención del riesgo biológico del INSHT).

Realizar adecuadamente este proceso de evaluación es fundamental para evitar errores en el diseño; ya que, mediante la evaluación se debería llegar a un nivel de detalle que implique, no solamente la determinación del nivel de contención necesario, sino qué medidas concretas de contención hay que aplicar, y qué características específicas deben tener estas medidas de contención. En concreto, las características detalladas de los diferentes elementos que formarán parte de la futura instalación: distribución, características constructivas, revestimientos, sistema de tratamiento y filtración de aire, necesidad de ducha de salida, necesidad de un sistema de tratamiento de efluentes, etc.

En este sentido, la futura norma UNE 171400-1 (actualmente, norma PNE 171400-1) no sólo plantea de forma detallada los requisitos mínimos que se deben cumplir en general en las instalaciones NCB3; sino que también, ofrece diferentes posibilidades para el cumplimiento y desarrollo de los requisitos en función del resultado de la evaluación de riesgos y del nivel de riesgo potencial.

Bien es verdad que existen manuales y guías de referencia internacional como los manuales "Bioseguridad en el laboratorio (OMS)" y "*Biosafety in microbiological and biomedical laboratories* (CDC-NIH)"; pero estos documentos no tratan con el mismo nivel de detalle y minuciosidad todos los elementos de diseño de las instalaciones NCB3 (tal como lo hace la norma UNE 171400-1). Tal vez, el único documento comparable en cuanto a detalle y actualización técnica es el manual "*Canadian Biosafety Standards and Guidelines*", pero la norma UNE 171400-1 tiene varias ventajas frente a este documento; no es un mero manual, sino que es un documento normalizador, redactado en español y en el que se ha tenido en cuenta la legislación española.

CARACTERÍSTICAS Y ESTRUCTURA DE LA NORMA UNE 171400-1

La norma UNE 171400-1 tiene como objeto y ámbito de aplicación, establecer los requisitos necesarios de biocontención y biocustodia de las instalaciones NCB3 pertenecientes a las áreas de investigación, diagnóstico y producción.

El establecimiento de barreras para impedir el acceso al material biológico de riesgo o a los datos relacionados con este ha obtenido gran preeminencia desde hace unos años por motivos obvios. En la norma, no solamente se tiene en cuenta la biocontención, sino también los elementos de diseño relativos a la biocustodia. La estructura general de la norma se compone: de una parte común, en la que se desgranar de forma minuciosa los requisitos generales de diseño que ha de tener cualquier instalación NCB3 (estando incluidos en este apartado los laboratorios); y de dos partes específicas, que recogen detalladamente los requisitos de diseño de las instalaciones para animales y de las instalaciones de cultivo vegetal. En cada capítulo se definen uno o más requisitos en los que se usa la forma verbal "debe" (obligatoriedad). Aparte de los requisitos, donde se ha considerado apropiado se ha proporcionado información orientativa, así como ayuda para la interpretación de estos. Esta orientación se da en forma de notas técnicas asociadas a cada requisito y usa los términos "debería" (recomendación) y "puede" (posibilidad o permiso). En general, el documento se ha estructurado de manera que el texto que forma parte de los requisitos se encuentra definido mediante un tipo de letra diferente al texto de las notas técnicas.

A continuación, se indica el índice de los requisitos de diseño que constituyen la norma:

Requisitos generales para el diseño de instalaciones NCB3

- Cumplimiento de requisitos legales.
- Estudios técnicos previos: programa funcional, evaluación de riesgos, estudio geotécnico, evaluación ambiental y análisis de las estructuras existentes.

- Ubicación de la instalación NCB3.
- Determinación del área de contención (área biocontenida) y de la barrera de contención.
- Distribución interna. Ubicación de salas.
- Seguridad y vigilancia.
- Elementos estructurales: perímetro de contención, paramentos y acabados interiores y carpintería.
- Control de acceso y salida: acceso a la instalación de contención, a planta de tratamiento de efluentes y a la planta técnica de filtración de aire.
- Vestuarios y duchas.
- Tratamiento del aire: redes de impulsión y de extracción, sistemas de climatización, ventiladores y extractores, renovaciones de aire y filtración.
- Gradiente de presión subatmosférica o negativa, flujo direccional de aire.
- Mobiliario.
- Instalaciones generales, suministros e infraestructuras: ubicación, red eléctrica y alumbrado, red de saneamiento, suministro de diferentes fluidos.
- Sistemas de comunicación.
- Sistema de control y gestión de la instalación NCB3.
- Sistemas de intercambio: *airlocks*, SAS (*pass-through box*), tanques de inmersión (*dunk-tanks/deep-tanks*), autoclaves.
- Descontaminación ambiental.
- Sistema de tratamiento de efluentes: ubicación y características del área, características básicas del sistema, tipos de sistemas, tipos de tratamiento, enfriamiento y neutralización de los efluentes.

- Gestión del tratamiento de residuos sólidos biocontaminados.
- Sistemas de protección contra incendios.
- Otros riesgos.
- Emergencias en instalaciones NCB3.

Requisitos adicionales y específicos para el diseño de animalarios de nivel 3 de contención biológica (NCB3A)

- Consideraciones generales para instalaciones NCB3A.
- Consideraciones técnicas: ubicación de la instalación, materiales de obra y revestimientos, paramentos, carpintería, tratamiento de aire, instalaciones generales y suministros, red de saneamiento y sistema de tratamiento de efluentes líquidos, sistemas de comunicación y de gestión de la instalación, sistemas de intercambio, sistemas para el transporte de grandes animales.
- Distribución y relación funcional de las dependencias: salas de estabulación para grandes animales y para pequeños animales, salas de necropsias.

Requisitos adicionales y específicos para el diseño de instalaciones de nivel 3 de contención biológica para el cultivo de plantas (NCB3P)

- Consideraciones generales para las instalaciones NCB3P.
- Consideraciones técnicas: ubicación y restricción de acceso, paramentos y carpintería de cámaras climáticas, tratamiento de aire, instalaciones generales y suministros, saneamiento y sistema de tratamiento de efluentes, sistemas de comunicación y de gestión de la instalación, sistemas de intercambio.
- Distribución y relación funcional de las dependencias en las instalaciones NCB3P.

Adicionalmente, la norma UNE 171400-1 contendrá dos anexos informativos muy interesantes ya que facilitarán su aplicación conforme a la legislación española vigente:

- **Anexo A. Legislación de aplicación en España relacionada con el diseño, construcción y gestión de instalaciones de contención biológica.** Además, se incluye una relación de normas técnicas, guías y manuales internacionales de referencia para el diseño de este tipo de instalaciones.
- **Anexo B. Relación entre apartados específicos de la norma y la legislación o normativa de aplicación.** Se recogen los apartados de la norma en los que existe una relación o referencia directa a la legislación o la normativa de aplicación en España relacionada con el diseño, construcción o gestión de instalaciones. Para cada apartado de la norma recogido en la tabla se indica el requisito legal o la norma recomendable en cada caso, incluyéndose notas que facilitan la comprensión de cada concordancia.

APLICABILIDAD

Esta norma a través de sus requisitos ofrece un concepto claro de los elementos clave en el diseño de las instalaciones NCB3. Incluye índices de referencia inequívocos para determinadas variables como gradientes de presiones, estanqueidad de conductos de aire, de cajas de filtración, etc. Por otra parte, al incluir gran cantidad de notas técnicas de apoyo para los requisitos que tienen mayor complejidad técnica, este documento no es solamente una norma técnica al uso, sino que presenta una función muy significativa como guía técnica o manual de diseño. Otro aspecto que reseñar es que el nivel de exigencia de determinados requisitos queda abierto en base al resultado de la evaluación del riesgo biológico que se obtenga. Como se ha indicado anteriormente, la evaluación de riesgo es fundamental para determinar en detalle las características de los diferentes elementos de contención de una instalación. Por tanto, esto debe ser tenido en cuenta en la norma, ofreciéndose un diseño abierto que pueda ser aplicable a las diferentes instalaciones según su riesgo potencial.

Esta norma se podrá aplicar a partir de su publicación a cualquier instalación NCB3 existente que la pueda cumplir, pero sobre todo a las instalaciones NCB3 de nueva construcción y a aquellas existentes que sufran alguna reforma o modificación significativa en alguno de los aspectos recogidos.

La norma, al ser implantada permitirá:

- Establecer unos parámetros de diseño que minimicen el riesgo hasta niveles aceptables en relación con los trabajadores, la población en su conjunto y el medio ambiente.
- Asegurar la implementación eficaz de la norma en la práctica, indicando los mecanismos adoptados.
- Solicitar y obtener una certificación o verificación de las instalaciones independiente.
- Aportar un marco de trabajo que se pueda utilizar como base para la formación y concienciación sobre las directrices de biocontención y biocustodia.

Aunque la certificación frente a esta norma es de momento voluntaria, se considera que la obtención de dicha certificación será una clara garantía del adecuado diseño de dichas instalaciones.

REPERCUSIÓN

La norma UNE 171400-1 representa un hito en el ámbito de la bioseguridad por varias razones:

- Normaliza los parámetros de diseño de las instalaciones NCB3, ofreciendo un modelo de diseño abierto, lo cual tiene indudables ventajas para todas las partes interesadas, pero sobre todo para los profesionales de diseño y de asesoría en bioseguridad.
- Ofrece una guía técnica brindando diferentes posibilidades de ejecución para los aspectos más complejos en función del riesgo potencial existente en cada instalación.
- Normaliza específicamente las instalaciones de contención para el cultivo de plantas, sirviendo como guía de diseño. Este aspecto es importante ya que la biocontención en el cultivo de plantas representa un reto tecnológico emergente debido al desarrollo de la biotecnología y de la investigación de los patógenos y vectores vegetales.
- Es el primer documento de estas características en español y su nivel de detalle es al menos comparable al de otras normas y documentos técnicos de referencia internacional. Este aspecto

producirá una gran repercusión en el ámbito de la bioseguridad en España, pero también en el internacional y muy significativamente en el ámbito de la bioseguridad en Hispanoamérica.

Próximamente, el subcomité Bioseguridad de UNE empezará a preparar la norma UNE 171400-2 sobre los procedimientos de cualificación y validación que deben implementarse en las instalaciones NCB3. De esta forma, los profesionales pertenecientes al ámbito de la bioseguridad y todas las partes interesadas dispondrán de una normativa técnica completa y de referencia sobre el diseño y la validación de las instalaciones NCB3.

Por supuesto, la norma UNE 171400 de diseño y validación pasará a formar parte de las normas ya editadas por el subcomité Bioseguridad:

- Norma UNE-CWA 15793:2011 Gestión de riesgo biológico en el laboratorio.
- Norma UNE-CWA 16393:2014 Gestión de riesgo biológico en el laboratorio. Guía de aplicación del CWA 15793:2008.
- Norma UNE-CWA 16335:2014 Competencia del profesional en bioseguridad.

Estos documentos técnicos forman un conjunto que normaliza todos los aspectos de bioseguridad en los laboratorios y que ofrece un soporte técnico de primer orden a los profesionales de la bioseguridad.

- Guía Técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos (RD 664/1997). Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. 2014.
- Manual de Bioseguridad en el laboratorio. Organización Mundial de la Salud, tercera edición. 2005.
- Norma PNE 171400-1 Diseño de instalaciones de nivel 3 de contención biológica (NCB3) (futura norma UNE EN 17400-1).
- Norma UNE-CWA 15793:2011 Gestión de riesgo biológico en el laboratorio.
- Norma UNE-CWA 16335:2014 Competencia del profesional en Bioseguridad.
- Norma UNE-CWA 16393:2014 Gestión de riesgo biológico en el laboratorio. Guía de aplicación del CWA 15793:2008.
- Real Decreto 178/2004, de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente. BOE nº 27 de 31 de enero de 2004.
- Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. BOE nº 124 de 24 de mayo.
- <http://canadianbiosafetystandards.collaboration.gc.ca/>
- <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>
- https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_la_boratorio.pdf?ua=1

BIBLIOGRAFÍA

- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. US Government Printing Office. 5th edition. 2009.
- Canadian Biosafety Standard for facilities handling or storing human and terrestrial animal pathogens and toxins. Public Health Agency of Canada. 2nd edition. 2015.
- Canadian Biosafety Handbook. Public Health Agency of Canada. 2nd edition. 2016.



Indicios

Lola García Olmo

Directora Técnica Centre de Recerca Experimental
Biomèdica Aplicada (CREBA)

Queridos Secaleros:

La Revista crece en contenidos, y es un placer y un honor presentaros la nueva sección, INDICIOS.

Este espacio estará dedicado a recoger el conocimiento que adquirimos por la experiencia de nuestro trabajo diario, o las ideas que “nos funcionan”, pero no tenemos tiempo, ni recursos para poder demostrar mediante el método científico y, por tanto, nunca pueden ver la luz.

Aquí tendrán cabida las intuiciones que nos dan vueltas en la cabeza, los consejos que sólo nos atrevemos a dar por un medio informal, o las ideas sin terminar de confirmar.

Pero, *¿cómo osáis a ignorar el método científico?!* Nada más lejos. Lo que se va a publicar aquí no es ciencia contrastada, sino ideas particulares, por eso no entran en una sección ordinaria, sino en una especial.

¿Para qué? Por si a alguien le interesa recoger la idea y probarla, o por si es la pieza que encaja en otro puzzle. Es, en otras palabras, un tablón de ideas.

El formato será sencillo: máximo de 1.000 palabras y dos imágenes, con dos apartados básicos:

- *Planteamiento*: exposición concisa de la idea.
- *Indicios*: datos e indicios que han motivado esta idea.

A partir del próximo número de la Revista comenzaremos ya a publicar vuestras ideas. Todos podéis dirigir vuestras propuestas, consultas o reflexiones a dgarcia@creballeida.org

Os esperamos, para seguir con vosotros tras la pista.

Lola García-Olmo



Luis Muñoz de la Pascua

Licenciado en Veterinaria por la Universidad de Córdoba y Doctor por la Universidad de Salamanca.
Director del Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Salamanca (USAL).

“La ignorancia engendra más confianza de la que con frecuencia engendra el conocimiento”

Redactor: Hernán Serna Duque

¿Cuál es tu trayectoria dentro del ámbito del animal de laboratorio?

Empecé en este campo hace ya casi tres décadas a raíz de participar en el curso de capacitación que organizaba Patri en la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Allí conocí a Fernando Núñez, entonces en el Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols (IIBM), que me ofreció la oportunidad de ir a Madrid y conocer de primera mano el trabajo en los animalarios. No sabía cuanto me cambiaría la vida, de una a priori corta estancia de un par de semanas en el 92. Nada más llegar conocí a Carmina que, con su generosidad, me ofreció también la oportunidad de aprender en el gabinete veterinario de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) y me presentó a los inquietos miembros de nuestra sociedad como *alma mater* de la misma. Poco después y gracias a ella, tuve la ocasión de ir con Javier Palacín al Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBM), donde por casualidad, hacía falta una sustitución como cuidador para el verano y eso me llevó a poder aprender, desde los puestos base, como se desarrollaba el trabajo en un animalario de barrera, de los pocos que existían en España por aquel entonces y de la mano de un gran profesional y mejor persona como es Javier. De aquella corta, pero intensa, época guardo un gran recuerdo y fue cuando en realidad sentí el “gusanillo” de las Ciencias del Animal de Laboratorio que me enganchó definitivamente.

Los siguientes dos años fueron un sucesivo devenir de trabajos temporales entre campañas de saneamiento ganadero, clínicas veterinarias y otro par de estancias en el CBM de nuevo, donde estuve mejorando el *software* de gestión existente, a la par que participaba en las tareas propias del animalario, y también, una corta estancia en el Servicio de Investigación del Hospital Ramón y Cajal, con Pablo Jorge Herrero y Carlos Correa. Tras un tiempo, en el que parecía que mi perspectiva profesional se orientaría hacia la clínica de animales de compañía, fui llamado para una entrevista de trabajo en la USAL. Así, de la noche a la mañana, me vi en la dirección del recientemente creado Servicio de Experimentación Animal en la Universidad, y desde entonces me encuentro desempeñando este trabajo. La puesta en marcha del nuevo animalario de la USAL, me supuso un reto profesional que me duraría más de una década, ya que, tras unos años, se empezó a gestar la creación del actual Centro de Investigación de Cáncer como centro mixto del CSIC&USAL, que demandaría el diseño y construcción de otro animalario destinado exclusivamente a la cría y mantenimiento de ratones transgénicos y, posteriormente, el Instituto de Neurociencias de Castilla y León (INCyL) que también hizo necesario diseñar otro animalario. Durante este periodo, conocí a la Dra. López, que me introdujo en la investigación en el área de las neurociencias, en la que realicé mi

tesis doctoral bajo su dirección. Tuve también la oportunidad de participar en la junta directiva de nuestra sociedad con Jordi Cantó y Pepe Orellana como presidentes, así como en la revista de la SECAL por aquel entonces dirigida por Manolo Moreno. Posteriormente, también me encargué de la organización del IX Congreso de SECAL en 2009 en Salamanca. En los últimos años me he encontrado implicado en la puesta en marcha y mejora de la gestión del comité de ética de la universidad, participando en iniciativas diversas en este ámbito.

¿Qué te llevó a dedicarte al mundo de los animalarios?

En la facultad siempre me había interesado el campo de la investigación, especialmente el campo de las zoonosis. El conocimiento a través de amigos, de que estaban gestándose nuevos proyectos de animalarios a raíz de los cambios legislativos me animó a informarme sobre el tema y a realizar el curso de capacitación en la UAB como he comentado antes.

¿Qué es lo que más valoras o lo que más te aporta de la investigación en la que se utiliza el modelo animal?

Cuando uno conoce un poco de los modelos animales y de su historia, te das cuenta de cuanto han y siguen aportando los modelos animales al conocimiento. En las últimas décadas me parece asombroso como las técnicas de edición genética están revolucionando el campo y también los retos éticos que se nos presentan.

¿Y lo que menos te gusta?

Pues en general, hacer de policía cuando la gente se salta las normas y el egoísmo presente en algunos grupos de investigación

a la hora de compartir recursos y conocimientos. Creo que a veces es inherente a la carrera investigadora, pero repercute negativamente sobre el resto.

¿La experimentación animal da vida?

No sé si da vida, pero como les digo a los alumnos que visitan el centro en las jornadas de puertas abiertas, *"muchos de vosotros no estaríais vivos si no fuera por la experimentación animal"*.

En la entrevista anterior preguntábamos sobre la situación actual de la investigación en nuestro país. Para que un investigador pueda tener más oportunidades, ¿crees que es imprescindible estar fuera algunos años? ¿Incluso si quieres trabajar en España?

Creo que el vivir en países y entornos diferentes, con gente de diferentes culturas y diferentes modos de trabajo, es enriquecedor, te hace mejor persona y cambia para siempre tu perspectiva sobre el mundo. Sobre si mejora tus posibilidades de trabajo, diría que sí a priori, e independientemente del país, aunque, desgraciadamente, en España nunca se ha apostado por la ciencia con mayúsculas y hacen falta más que tímidas medidas para remontar la herencia de despropósitos acumulada.

¿Qué es el Servicio de Experimentación Animal (SEA) de la Universidad de Salamanca?

El SEA constituye el conjunto de infraestructuras y personal dedicado al apoyo en investigación y docencia a la comunidad universitaria en la USAL.



¿Quiénes sois?

El SEA lo componemos un total de catorce personas entre técnicos cuidadores, técnicos especialistas, técnico de mantenimiento y la dirección del servicio.



¿Qué funciones tiene el SEA?

Proporcionar recursos para la producción, suministro, mantenimiento y adquisición de animales de experimentación utilizados en la investigación y docencia, así como el asesoramiento técnico en ciencias del animal de laboratorio.

¿Con qué instalaciones cuenta el SEA para el desarrollo de sus actividades?

El SEA cuenta, actualmente, con tres animalarios para roedores y lagomorfos, un quirófano de cirugía experimental para animales grandes y una colaboración estrecha con el servicio de transgénesis de ratón, dirigido por Manuel Sánchez Martín.



¿Qué importancia ha tenido el SEA en el desarrollo científico de nuestro país?

Sería vanidoso que yo calificara al servicio en este sentido. Creo que todos en nuestro sector contribuimos, aunque sea con una pequeña pieza del, enorme, puzle que es el conocimiento. Espero que algunas de las investigaciones que se han desarrollado en nuestro servicio puedan tener implicaciones en el futuro para la mejora de la salud de las personas o de los animales.

Mutemos. ¿Qué te ha quedado de todo este tiempo que eres socio de la SECAL?

Pues lo mejor sin duda, muchos amigos. También la certeza, de que como la voluntad de un grupo pequeño de personas puede hacer cambiar muchas cosas para bien.



Seguro que estos años de trabajo como Director del animalario te han dejado una cadena de historias, ¿alguna anécdota?

Bueno, recuerdo entre otras, cuando se estaba construyendo el animalario de Organismos Modificados Genéticamente (OMG), que el arquitecto estaba empeñado en poner un ascensor y no un montacargas. Fue tal su insistencia, que le dije en broma que estaba previsto que nos trajeran un elefante transgénico y que no cabría en el ascensor. No volvió a insistir.



Enriquecimiento Ambiental

- **¿Una frase?**
"La ignorancia engendra más confianza de la que con frecuencia engendra el conocimiento".
- **¿Una ciudad para vivir?**
Sur de España, mediana población y con mar.
- **Tienes todo un mes para ir en un viaje que atraviesa el Atlántico en Catamarán, ¿qué echarías de menos a la tercera semana de viaje?**
Tres semanas es muy poco para echar de menos nada en el entorno que propones, a menos que haya muy mala mar.
- **Una película, un libro, y una afición.**
Salvar al soldado Ryan, La isla del tesoro, y el aeromodelismo.
- **¿A qué personaje histórico te gustaría conocer?**
Albert Einstein.
- **¿Qué añoras de Cádiz?**
El mar y la gracia de la gente.
- **¿Qué querías ser de pequeño?**
Astronauta.
- **¿Qué consejo das al redactor de esta entrevista? Llévate cuidado, que tengo Salamanca al lado.**
Que persiga sus ilusiones y nunca pierda la alegría que transmite a los demás.

• Dicen por ahí que el único riesgo que se corre en Colombia es que te quieras quedar. ¿Es así?

Lo mejor de Colombia es su gente y eso hace mucho para que quieras quedarte en un sitio.



Test de Preferencia

- **José Celestino Mutis o Hernán Cortes:**
Mi paísa.
- **Chirigotas o Habaneras:**
Depende de la chirigota y de quien cante la habanera.
- **Boeing o AIRBUS:**
Muy fácil tras los recientes acontecimientos, además es europea.
- **Salamanca o Cádiz:**
Pasa palabra.
- **Mar o cielo:**
No hay uno sin el otro para mí.
- **Trabajo solo o en equipo:**
Solo.
- **Gambas del sur o jamón de Guijuelo:**
Sería un sacrilegio prescindir de cualquiera.
- **Patrón o piloto:**
Patrón, te da tiempo a hacer más cosas mientras patroneas.
- **Presidente del Club de modelismo o Presidente de la SECAL:**
De nada. Las presidencias no van conmigo.
- **Jubilación a los 60 o a los 70:**
A los 60, hay que dejar paso a los que vienen y tener tiempo para disfrutar de otras cosas, pero hay que ser muy optimista para que me lo crea.



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

