

ANIMALES DE LABORATORIO

PRIMAVERA 2021 / NÚMERO 89



**Escasez de macacos para investigación:
¿efecto inesperado de la pandemia?**

**Agrupación de ratones macho adolescentes como estrategia
para no alojar ratones recién destetados solos**

**Entrevista a Hernán Serna y Juan M. Baamonde,
organizadores de ExpoBioterios Virtual 2020**



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

- + Global availability of high-quality research animal models
- + World-leading Teklad Global Diets® designed to minimize research variables
- + Health and genetic testing, surgery, custom breeding and antibodies
- + Transgenic models and services to advance disease research and drug development



Download our radiosensitivity of immunodeficient mice white paper at:

envigo.com/r2g2-cancer





EDITORIAL

De la mano

Cuando decides dedicarte al mundo de la experimentación animal lo haces desde el convencimiento del beneficio que ésta le proporciona a la ciencia, a la salud y al bienestar de la vida, todo ello fundamentado desde el respeto hacia la otra especie.

A veces, nos perdemos entre tantas leyes, normativas y disposiciones y pasamos por alto lo fundamental a la hora de trabajar con animales: el respeto, y, como consecuencia, el agradecimiento por todo lo que hemos conseguido. En muchas ocasiones, y a pesar de ser uno de los valores más importantes de la vida en sociedad, es necesario aprenderlo, pero lo podemos conseguir mediante el ejemplo de las conductas adecuadas en nuestro entorno laboral, luego vendrá la formación y el refinamiento en todos los procedimientos, pero sin respeto, difícilmente podemos dar estos pasos.

A lo largo de todos los números de esta revista hemos hablado de avances científicos, de técnicas que mejoran el bienestar de los animales, de la cultura del cuidado y hasta de la fatiga por compasión que puede suponer el trabajo diario con animales de experimentación, todo ello desde el conocimiento y la experiencia de tantos y tan buenos profesionales que dedican parte de su vida a este trabajo y lo hacen con la ilusión y la generosidad de compartir sus conocimientos con la sociedad. No vamos a dejar de hacerlo, seguiremos fomentando la divulgación y el conocimiento. Esta revista la hacemos entre todos y para todos, sigamos mejorando, sigamos refinando y sigamos formándonos e informándonos, no perdamos las ganas y el motivo por el que seguimos aquí: el bienestar animal y, por consiguiente, el avance para la ciencia.

Dirección de la revista

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.cnic.es

PUBLICIDAD

David Mayo López

publicidad.revista@secal.es

FOTO DE PORTADA

Suministrada por la autoría

DISEÑO Y MAQUETACIÓN

www.cervantes.agency

pluscs@hotmail.com

IMPRIME

LPG

[lp{textil@gmail.com}](mailto:lp{textil@gmail.com)

DEPÓSITO LEGAL

M-1362-1999

EDITORIAL JUNTA DE GOBIERNO

PRESIDENCIA

Isabel Blanco Gutiérrez (2017-2021)

SECRETARÍA

Julia Samos Juárez (2017-2021)

TESORERÍA

Viviana Bisbal Velasco (2017-2021)

VOCALÍAS (2017-2021)

María Jesús Molina Cimadevila

Elena Hevia Hernández

David Mayo López

John Sparrowe-Gil Del Real

VICEPRESIDENCIA

Juan Rodríguez Cuesta (2019-2023)

VICESECRETARÍA

Mónica Gómez-Juárez Sango (2019-2023)

VICETESORERÍA

Marta Miró Murillo (2019-2023)

VOCALÍAS (2019-2023)

Clara Sánchez González

Oscar Pintado Sanjuán †

Carlos Carnero Guerrero

Garikoitz Azkona Mendoza

SOCIOS BENEFACTORES



- ▶ ANADE
- ▶ ANIMALARIA FORMACIÓN y GESTIÓN, S.L.
- ▶ ANTONIO MATACHANA, S.A.
- ▶ ARP LOGÍSTICA CLÍNICA S.L.
- ▶ BIOGEN CIENTÍFICA, S.L.
- ▶ BIOSIS
- ▶ CENTRO DE ESTUDIOS BIOSANITARIOS, S.L.
- ▶ CHARLES RIVER LABORATORIES ESPAÑA, S.A.
- ▶ DINOX, S.L.
- ▶ DYNAMIMED, S.L.
- ▶ ENVIGO RMS SPAIN, S.L.
- ▶ GRANJA SAN BERNARDO
- ▶ IDEXX BIOANALYTICS
- ▶ JANVIER LABS
- ▶ NORAY BIOINFORMATICS, S.L.U.
- ▶ PANLAB - HARVARD APPARATUS, S.L.U.
- ▶ PERKINELMER
- ▶ PROLABOR
- ▶ RETTENMAIER IBERICA, S.L. Y CIA SCOM
- ▶ SEGURIDAD Y BIENESTAR ANIMAL, S.L.
- ▶ SODISPAN RESEARCH, S.L.
- ▶ STERILTECH, S.L.
- ▶ STERIS IBERIA, S.A.
- ▶ TEMINOX C.B.
- ▶ TROVAN
- ▶ VESTILAB C.R.C., S.L.U.
- ▶ VIVOTECNIA RESEARCH
- ▶ ZOONLAB GmbH





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
sergivilab@gmail.com



Técnicas
ALEXANDRA DE FRANCISCO LÓPEZ
afrancisco@hggm.es



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



Al cuidado
JULIA SÁNCHEZ GARCÍA
julia.g.sanchez@gsk.com



¿Y tú qué opinas?/Un modelo
al lado de los humanos
JOSÉ LUIS MARTÍN BARRASA
jmarbars@gobiernodecanarias.org



Panorama
JAVIER GUILLÉN IZCO
jguillen@AAALAC.org



Control sanitario
JOSEP M^º MARIMON ESCUDÉ
jmmarimon@ub.edu



Reproducción y genética
MARTA CASADO PINNA
mcasado@ibv.csic.es



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



In vitro
GUILLERMO REPETTO KUHN
grepkuh@upo.es



Bienestar animal
GARIKOTZ AZKONA MENDOZA
gazkona@gmail.com



CEEA-OH
ALBERTO PASTOR CAMPOS
albertopastor@umh.es



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



ABSLab
FRANCISCO JAVIER GARCÍA PALOMO
jpalamo@usal.es



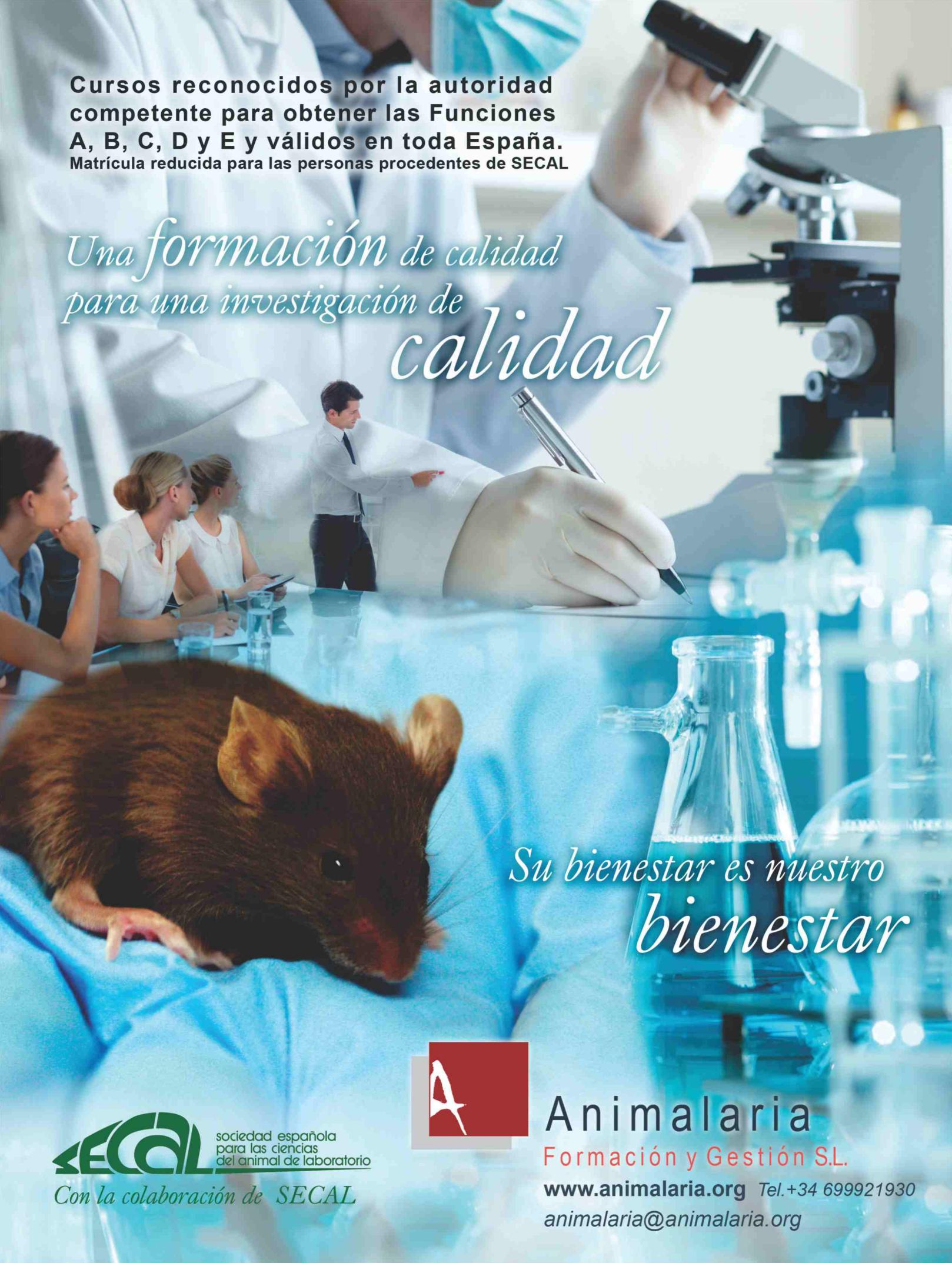
Indicios
LOLA GARCÍA OLMO
dgarcia@creballeida.org



Entrevista
AMAIA VALDEMOROS RODRÍGUEZ
amaia.valdemoros.av.
external@almirall.com

Han colaborado en este número:

Carme Cucarella, Servicio de transgénesis y biotecnología del IBV-CSIC; **Jordi Save Araño** y **Pablo Presa Giménez**.



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*

SECAL
sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

Con la colaboración de SECAL



Animalaria

Formación y Gestión S.L.

www.animalaria.org Tel.+34 699921930

animalaria@animalaria.org

3 EDITORIAL

9 NOTICIAS

- *In memoriam* Javier Sicilia Alonso.
- Publicación del Real Decreto 118/2021, de 23 de febrero, por el que se modifica el Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero.
- La SECAL participa en la elaboración de la Guía sobre el mantenimiento de la capacitación.
- La historia de Mussi, traducido al alemán.
- Propósito 5 km de la SECAL.

17 ACTUALIDAD

- La falta de monos de laboratorio retrasa meses muchas investigaciones clave.
- Los modelos animales de xenograft (PDX-PDOX) mantienen el comportamiento genético de los tumores humanos originales.
- La vacuna de la COVID-19 abre una nueva vía contra la esclerosis múltiple.

21 TÉCNICAS

- Modelos de diabetes inducida. ¿Cómo elegir el modelo correcto?

27 ÉTICA Y LEGISLACIÓN

- Escasez de macacos para investigación: ¿efecto inesperado de la pandemia?

29 AL CUIDADO

- Manipulación de cerdos y ovejas en el mundo de la investigación.

33 PANORAMA

- La gestión de la pandemia en un animalario, todo un desafío.

39 REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

- Herramientas para el análisis de edición mediada por nucleasas.

47 BIENESTAR ANIMAL

- Agrupación de ratones macho adolescentes como estrategia para no alojar ratones recién destetados solos.

51 ABS LAB

- Filtración efectiva en Unidades de Tratamiento de Aire (UTAs) para la reducción de partículas posibles portadoras virales presentes en el aire de interiores.

57 ENTREVISTA

- Entrevista a Hernán Serna (Binaex) y Juan M. Baamonde (Bioterios.com), Organizadores de ExpoBioterios Virtual 2020.



30

17 a 19 - noviembre - 2021

XVI Congreso

de la Sociedad Española para las
Ciencias del Animal de Laboratorio

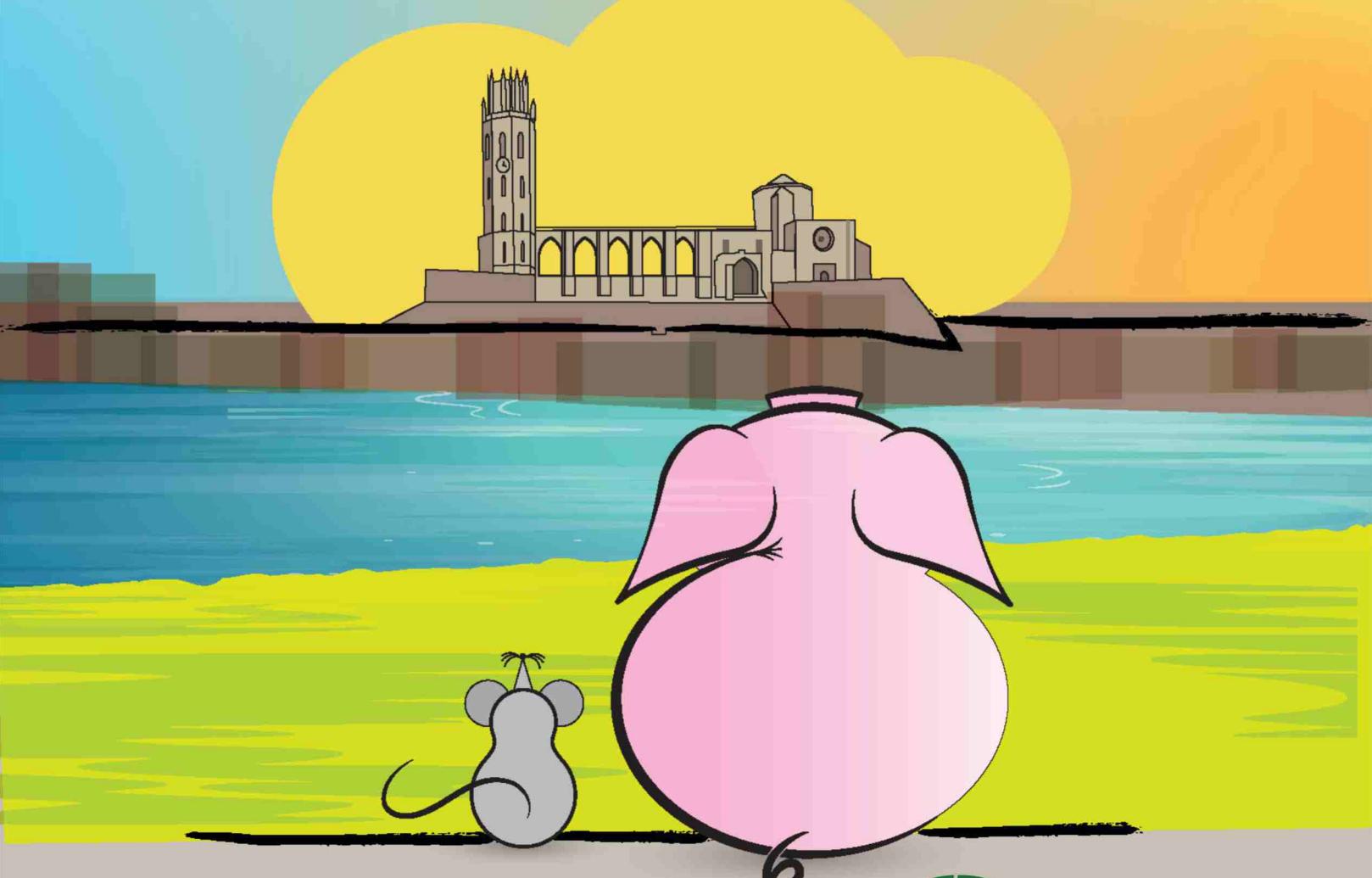
secal Ileida 2021

Fecha límite de envío de comunicaciones: 3 de septiembre de 2021

Resolución de comunicaciones: hasta el 24 de septiembre de 2021

Fecha límite inscripción autor principal: 8 de octubre de 2021

Fecha límite de inscripciones bonificadas: 22 de octubre 2021



Web: <http://congresosecal.org/>

Twitter: <https://twitter.com/SECAL2021>



In memoriam Javier Sicilia Alonso

Fernando Asensio



Imagen suministrada por la autoría

Nos conocíamos desde 2010, poco antes de que se incorporara a la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital Gregorio Marañón, en enero de 2011. Desde entonces fuimos amigos. Hablábamos regularmente, nos veíamos en los congresos y en las jornadas, nos contábamos nuestras alegrías y nuestras dificultades. Nos dábamos apoyo y consejo.

Antes de llegar al Marañón había trabajado en el Laboratorio Central de Sanidad Animal de Algete y en el Centro de Investigación de Sanidad Animal de Valdeolmos, ambos en Madrid. Animado por Miguel Ángel Sánchez, se presentó a una vacante en nuestro centro y estuvo tres años con nosotros. Después, acabando 2014, le contrataron en el Centro Tecnológico de Formación del Hospital Teresa Herrera de A Coruña y durante estos últimos años estuvo en el Instituto de Investigación Sanitaria La Fe de Valencia.

En el trabajo era tenaz y riguroso. Perseverante, cumplidor y concienzudo. Cuando llegó al Marañón no había leído la tesis. La parte experimental la había hecho años atrás en Canarias, estudiando parámetros reproductivos y conducta sexual de machos cabríos de razas autóctonas, pero no era fácil retomar el hilo, recuperar la información, ordenar los datos, estructurarlos y darles sentido. Tuvo que implicarse a fondo, le costó tiempo y esfuerzo, pero finalmente la defendió en 2016 en la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Sin quitar mérito a sus directores de tesis, el conseguir doctorarse en aquellas circunstancias fue una muestra más de su constancia y de su carácter.

Creo que lo que más le gustaba era el quirófano. La cirugía, la anestesia, la docencia. Poniendo el bienestar de los animales en el foco de atención, mantenía un continuo afán por aprender, por aplicar nuevas

técnicas, por avanzar profesionalmente y hacer mejor su trabajo. Recuerdo el primer email que mandó cuando "aterrizó" en A Coruña en el que nos contaba, casi con excitación, las excelencias del equipamiento del quirófano y las posibilidades de trabajo y aprendizaje que se le abrían.

Desde 2013 padecía una patología que condicionaba su vida diaria. Su actividad, su alimentación y sus hábitos cotidianos. A veces le limitaba mucho o le complicaba las relaciones sociales. Nunca le escuché ni una queja ni un lamento. Siempre positivo, siempre animoso. Mirando hacia adelante con optimismo. Aunque imagino que tendría la preocupación corriendo continuamente en segundo plano.

Sin duda era un tipo singular, los que le conocíais sabéis de lo que hablo. A menudo nos sorprendía con su forma de ver las cosas, de fijarse en los detalles, de dar importancia a hechos o circunstancias que a los demás nos parecían banales. Incluso diría que a veces era complicado seguirle, pero era parte de su personalidad, de su carisma. Tenía un punto de excentricidad cotidiana que me descolocaba, me divertía y hasta me provocaba ternura.

Le voy a echar de menos. Todavía no me he hecho a la idea. Todavía es como si no hubiera pasado, como si cualquier día de estos al sonar el teléfono fuera a aparecer su nombre en la pantalla de mi móvil, como si nos fuéramos a volver a encontrar en el próximo congreso.

Qué pena, Javi, qué pena.



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 tratará 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

Publicación del Real Decreto 118/2021, de 23 de febrero, por el que se modifica el Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero

Palabras clave: legislación, RNT, BOE.

Las modificaciones del RD 53/2013, tienen relación a:

- Los plazos y la información incluida en los Resúmenes No Técnicos (RNT) de los proyectos.
- La publicación de los informes estadísticos.

Artículo único. Modificación del Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.

El Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia, queda modificado como sigue:

Uno. La letra e) del artículo 34.2 queda redactada como sigue:

«e) Un examen de las situaciones y excepciones previstas en los artículos 6, 7, 9, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 26 y 29; y»

Dos. El artículo 36 queda redactado como sigue:

«Artículo 36. Resúmenes no técnicos de los proyectos.

1. A efectos de su publicación, los órganos competentes presentarán a la Comisión Europea, por medios electrónicos, los resúmenes no técnicos de los proyectos, así como las actualizaciones de estos, en un plazo máximo de seis meses desde su autorización. Dichos resúmenes, que serán presentados por los responsables de los proyectos, serán anónimos y, por ello, no contendrán denominaciones de usuarios, nombres de personas, ni ningún otro dato de carácter personal.

2. Siempre que la propiedad intelectual y la información confidencial queden protegidas, el resumen no técnico del proyecto incluirá, al menos, lo siguiente:
 - a) Información sobre los objetivos del proyecto, incluidos los perjuicios y los beneficios previstos, así como el número y tipo de animales que van a utilizarse.
 - b) La demostración del cumplimiento del requisito de reemplazo, reducción y refinamiento.
3. Los órganos competentes podrán exigir que el resumen no técnico del proyecto especifique si este debe someterse a una evaluación retrospectiva y, en tal caso, establecer el plazo. En tal caso, el resumen no técnico del proyecto debe actualizarse con los resultados de la evaluación retrospectiva en un plazo de seis meses a partir de la finalización de esta evaluación retrospectiva.
4. La información a que se refieren los apartados 1 y 3 se presentará para su publicación en el formato común que establezca la Comisión Europea.»

Tres. El artículo 41.4 queda redactado de la siguiente manera:

«4. Los puntos de contacto establecidos en el apartado anterior, a efectos del cumplimiento de la obligación de comunicación de información a la Comisión Europea, elaborarán informes con la frecuencia, el formato y el contenido que establezca la Comisión Europea o, en su caso, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, en coordinación con las comunidades autónomas y las ciudades de Ceuta y Melilla. Dichos informes se remitirán anualmente al citado Ministerio, fijándose como fecha límite el 31 de marzo.»

- Real Decreto publicado en el BOE: <https://www.boe.es/eli/es/rd/2021/02/23/118>

La SECAL participa en la elaboración de la Guía sobre el mantenimiento de la capacitación

Palabras clave: capacitación, CEPAFIC, formación.

La Orden Ministerial ECC/566/2015 (OM), de 20 de marzo, por la que se establecen los requisitos de capacitación que debe cumplir el personal que maneje animales utilizados, criados o suministrados con fines de experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia; contempla en el artículo 20, que la capacitación inicial para el desarrollo de las funciones se deberá mantener mediante actividades de formación continua.



El mantenimiento de la capacitación debe solicitarse al menos cada ocho años. Según el Anexo III de la OM, las actividades formativas para la formación continuada deberán ser equivalentes, como mínimo, al siguiente número de horas de formación:

- Función A: cuidado de los animales (20 horas).
- Función B: eutanasia de los animales (25 horas).
- Función C: realización de los procedimientos (45 horas).
- Función D: diseño de los proyectos y procedimientos (40 horas).
- Función E: asumir la responsabilidad de la supervisión «*in situ*» del bienestar y cuidados de los animales (90 horas).
- Función F: asumir las funciones de veterinario designado (90 horas).

La formación continua se podrá justificar con una o varias actividades formativas. El listado de las actividades de formación más relevantes son las siguientes:

- Cursos, talleres, ponencias y seminarios recibidos o impartidos (en la web de la SECAL se publican evento de formación periódicamente).
- Adquisición de nuevas habilidades en el centro de trabajo o en otros centros.
- Evaluación ética de proyectos.
- Publicaciones científicas, informes científico-técnicos, pertenencia a otros comités, comisiones o grupos de trabajo relacionados con experimentación animal o sus alternativas.

La guía sobre el mantenimiento de la capacitación ha sido publicada por el Comité español para la protección de los animales utilizados con fines científicos (CEPAFIC). La SECAL, como miembro del Comité, propuso el establecimiento de un marco general para la implementación de la formación continua que estuviera consensuado por todas las autoridades competentes.

En la elaboración de la guía, coordinada por **Rosa Nieto** como representante del MICINN e **Isabel Blanco** como representante de la SECAL, han participado activamente los siguientes miembros de la SECAL: **Oscar Pintado, Patri Vergara, Elena Hevia, Javier Guillén y Mª Rosario Moyano.**

El próximo 8 de abril, la SECAL organiza un seminario web con la presentación de la Guía de formación continuada y una mesa redonda en la que se resolverán las dudas que planteen los socios.

Los ponentes que van a formar parte de este seminario son:

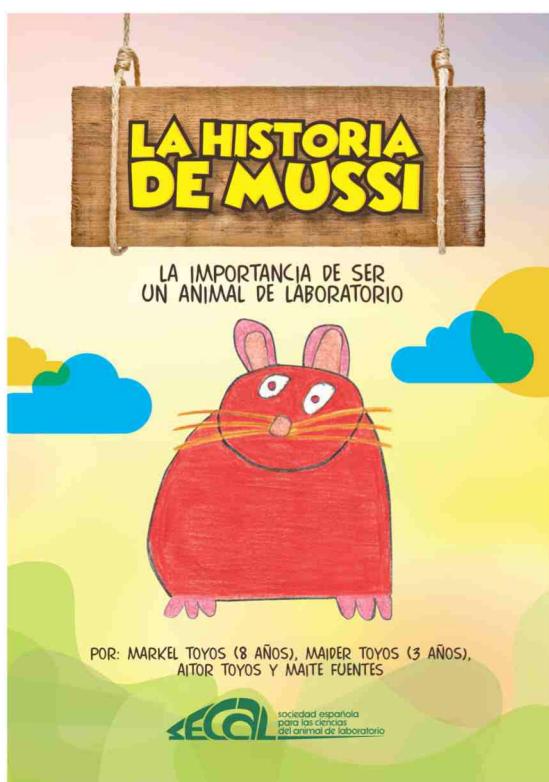
- **Rosa Nieto**, Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal. Estación Experimental del Zaidín, CSIC.

- **Elena Rosique**, Técnico de Gestión del Servicio de Producción Animal Región de Murcia.
- **Patri Vergara**, Catedrática de la Universitat Autònoma de Barcelona. Organizadora de cursos de formación para todas las funciones.
- **Isabel Blanco**, Presidenta de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio.

- Enlace a la guía publicada en la web del Ministerio: <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/bienestanimal/en-la-investigacion/CEPAFIC.aspx>

La historia de Mussi, traducido al alemán

Palabras clave: comunicación, cuento, niños.



Seguro que recordaréis este simpático personaje surgido en el concurso de cuento infantil que lanzó la SECAL en 2017. La iniciativa de la Vocalía de comunicación, pretendía incentivar la comunicación del animal de laboratorio a los más pequeños.

El trabajo ganador fue "La historia de Mussi" creado por **Markel Toyos, Maider Toyos, Aitor Toyos y Maite Fuentes**.

Tras numerosas descargas en la web de la versión en castellano, ahora presentamos la traducción al alemán gracias al trabajo realizado por **Ulla Biedermann y Juan Rodríguez**.

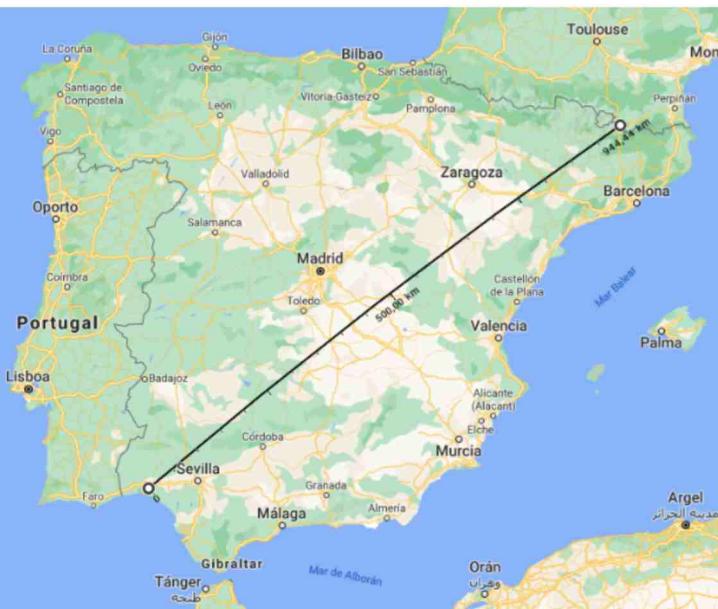
- Enlace a la versión en alemán del cuento la "Historia de Mussi": <https://secal.es/concurso-cuento-infantil-la-historia-de-mussi/>.

Propósito 5 km de la SECAL

Palabras clave: benefactores, SECAL, actividades.



Este inicio de año, todos teníamos mucho interés en dejar atrás el fatídico 2020 y empezar con nuevos propósitos. David Mayo, como representante de los Socios Benefactores, nos ha propuesto una forma sana de empezar el 2021. El Propósito 5 km de la SECAL ha sido una propuesta para todos. Recorrer 5 km en una o varias etapas, en uno o varios días, solo o en grupo. Una forma divertida de ponerse las zapatillas y salir a correr o pasear. Esta primera edición ha tenido 95 inscritos (36 hombres y 59 mujeres), y viendo la gran participación, seguro que repetiremos el próximo año. En total se han recorrido 945 km.



Esta iniciativa ha sido posible gracias a **David Mayo** y al apoyo de los socios benefactores: **Perkin Elmer, ARP logística, Matachana, Steris, Rettenmeier/JRS Ibérica, IDEXX BioAnalytics y Prolabor.**

Los participantes del **CMCIB/IGTP** han sido los ganadores en la categoría de centros (ver Figura 1). Y **Toni Bermúdez** de ISOQUIMEN ha sido el ganador en la clasificación individual (ver Figura 2).



Figura 1.- Equipo ganador con el mayor número de km realizados.
Fotografía cortesía del CMCIB/IGTP.



Figura 2.- Toni Bermúdez campeón del propósito 5 km con la Action Cam en su mano. Fotografía cortesía de ISOQUIMEN, S.L.

Damos la enhorabuena también al resto de participantes: ISOQUIMEN, IBV, Animalario SGIKER UPV/EHU, Universidad de Zaragoza, ABBOTT, CIBER, UCLM, GSK, CREBA, Universidad de Vigo, UAB, CBMSO, IIB Sant Pau, Binaex, Universidad de Granada, Zoetis, Matachana, CIPF, UPV, CHUA y CIEMAT. Todos igual de importantes y merecedores de la enhorabuena.

Algunos de los comentarios recibidos:

"Aquí, en el Animalario Bizkaia de la UPV/EHU, nos animamos unas cuantas, y solíamos comentar los trayectos realizados, tiempos y demás. La verdad que nos ha hecho obligarnos a salir y tomar aire, que tanta falta nos hace en estos tiempos que nos toca vivir." Maite.

"¡Nos hemos divertido, nos hemos retado... entre nosotros y entre centros... ¡Una buena iniciativa que ha dado color a nuestros días!" Sara.

- Más información del "Propósito 5 km de la SECAL" y las clasificaciones en: <https://proposito5km.secal.es/>

The advertisement features a close-up photograph of a scientist wearing a blue surgical cap and a white face mask, looking through a black and silver microscope eyepiece. The background is blurred, showing laboratory equipment. On the left side of the ad, there is a vertical green bar with the text "HAZTE SOCIO BENEFICUTOR" in large white letters, followed by smaller text "TU EMPRESA TAMBIÉN PUEDE SER PARTE DE LA SECAL". On the right side, there is a large green speech bubble containing the text "ESTAMOS EN EL CENTRO DE LA INVESTIGACIÓN EN HABLA HISPANA". At the bottom, the SECAL logo is shown with the text "sociedad española para las ciencias del animal de laboratorio" and the website "www.secal.es".

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



INSTRUMENTACIÓN E INSTALACIONES CIENTÍFICAS



Sistemas de descontaminación mediante peróxido de hidrógeno vaporizado registrado por la EPA y compatible con BPR, para proporcionar una reducción de patógenos de 6-Log, consistente y compatible con GMP para todos sus equipos y espacios.

SAS Biológico

Con GVPH L - 4 de Bioquell se consigue una reducción de patógenos de 6Log en todas las superficies de la cámara y de la carga.



Bioquell L-4

Generador de VPH móvil. Ideal para salas, aisladores, RABS, cabinas, etc.



SAS Ventilado

Diferentes dimensiones según necesidad de la instalación con KIT de conexión a GVPH L-4 de Bioquell.



Bioquell IG-2

Solución integrada con su equipo y proceso operativo.



Bioquell ProteQ

Descontaminación rápida y efectiva de salas. Móvil, escalable y compatible con tecnología de comunicación inalámbrica.



Bioquell BQ50

Generador móvil y robusto. Resultados automáticos, rápidos y probados.



Bioquell SeQure

Sistema fijo montado en pared.



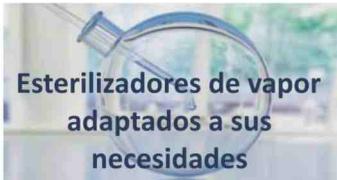
Asilador Qube

Espacio de trabajo aseptico y personalizable con GPHV integrado.



MMM Group

bmt@bmtiberia.es
www.bmtiberia.es



La falta de monos de laboratorio retrasa meses muchas investigaciones clave

Palabras clave: vacunas, monos, COVID-19.

A principios de 2020, China, principal suministrador de macacos de experimentación, anunció que paralizaba las exportaciones desde sus criaderos por temor a la propagación de la COVID-19. La medida parecía razonable, pero un año después el veto continúa. Esto está dejando a los centros de investigación europeos y norteamericanos desabastecidos, y perjudicando seriamente a múltiples grupos de investigación biomédica en todo el mundo, incluidos aquellos que buscan vacunas contra el nuevo coronavirus.

Sin probar las vacunas en macacos como modelo de primate no humano (NHP), difícilmente alguna agencia del medicamento las aprobará, ni cualquier otro tratamiento en desarrollo que pueda ser eficaz contra la COVID-19 o cualquier otra enfermedad. Las vacunas de Pfizer/BioNTech, Oxford/AstraZeneca y la de Janssen han recurrido a pruebas preclínicas con macacos para comprobar su seguridad y eficacia; sin embargo, la vacuna española, desarrollada por Mariano Esteban del CSIC, está a la espera de ensayos en estos primates, de ahí la relevancia del veto chino.

En la sección Ética y Legislación de este número, encontraréis un mayor análisis al respecto de esta noticia. Además, en las últimas semanas, han aparecido en la prensa diferentes artículos que hacen referencia a este preocupante tema; os dejamos la reseña de cada uno: el periódico **ABC** recoge las entrevistas a la presidenta de la SECAL, Isabel Blanco, y a Javier Guillén de AAALAC; el **New York Times** analiza el caso concreto de los EE. UU. y cómo están afectando estas restricciones; la revista **Quo** con dos artículos analiza la parte ética con

una interesante entrevista a Lluís Montoliú y el análisis de Kirk Leech de la Asociación Europea de Investigación Animal (EARA).

- "La falta de monos de laboratorio retrasa meses investigaciones clave". ABC - 08/03/2021, Judith de Jorge. https://www.abc.es/ciencia/abci-falta-monos-laboratorio-retrasa-meses-investigaciones-clave-202103071126_noticia.html#vca=rrss-inducido&vmc=abc-es&vso=tw&vli=noticia.foto
- "El futuro de las vacunas depende de algo que escasea: los monos de laboratorio". New York Times - 28/02/2021, Sui-Lee Wee. <https://www.nytimes.com/es/2021/02/28/espanol/monos-laboratorio-covid.html?smid=url-share>
- "China y la crisis de los macacos". Revista Quo - 17/02/2021, Lorena Sánchez Romero. <https://www.quo.es/ciencia/q2102646083/vacuna-covid-china-control-experimentacion-macacos/>
- "¿Por qué necesitamos primates para investigación?". Revista Quo - 17/02/2021, Lorena Sánchez Romero. <https://www.quo.es/ciencia/q2102701258/experimentacion-animal-macacos-luis-montoliu/>
- "Vacuna Covid del CSIC: 380.000 euros para testar su eficacia en primates". Redacción Médica - 09/02/2021. <https://www.redaccionmedica.com/secciones/sanidad-hoy/vacuna-covid-csic-testar-eficacia-primates-1504>

Los modelos animales de xenograft (PDX-PDOX) mantienen el comportamiento genético de los tumores humanos originales

Palabras clave: xenograft, avatares, ratón.

Investigadores del IDIBELL (Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge) y del ICO (Institut Català d'Oncologia) han participado en un estudio multicéntrico, publicado en *Nature Genetics*, que demuestra que la implantación de tumores humanos en ratones atípicos no conlleva cambios adicionales en el ADN.

"Imaginemos que una mujer entra en el hospital y se le diagnostica un cáncer de ovario. Le extraen el tumor, que es analizado por el patólogo y resulta ser del tipo seroso de alto grado. El oncólogo le administrará la quimioterapia que corresponda, y nosotros podemos implantar una muestra de ese tumor en el ovario de un ratón y aplicarle el mismo

ACTUALIDAD

tratamiento que se le haya prescrito a la persona. Dado que la vida del ratón es más corta –su ciclo vital es de dos años– el tumor evoluciona más rápido. Y eso nos ayuda a determinar la malignidad del tumor y predecir qué le ocurrirá a la paciente.”

Los **modelos animales de xenograft** se generan a través de la implantación de tumores humanos en ratones. Se trata de modelos en los que el tumor humano se implanta o en el tejido subcutáneo del ratón (llamados PDX, del inglés *Patient Derived Xenografts*) o en el mismo órgano de origen (llamados PDOX, del inglés *Personal Derived Orthotopic Xenograft*, o *Orthoxenografts*) del ratón. Estos modelos preclínicos son muy utilizados en estudios de eficacia de fármacos, ya que permiten a los investigadores estudiar las células tumorales humanas en el tejido *in vivo*, al igual que realizar estudios moleculares e identificar nuevas dianas terapéuticas.

Estudios genómicos e histológicos han demostrado que los tumores implantados en ratones conservan las características biológicas originales. Sin embargo, se ha cuestionado si el crecimiento del tumor en el tejido del ratón podría estar alterando su progresión y **afectar a genes relacionados con el cáncer**, que en segunda instancia podrían alterar los resultados de eficacia farmacológica.

Un estudio publicado en la revista *Nature Genetics* ha comparado cambios genéticos de 509 modelos –la mayoría subcutáneos– con sus

correspondientes tumores humanos originales, y no ha encontrado diferencias significativas. En concreto han medido alteraciones en el número de copias, es decir, pérdidas o ganancias de fragmentos de ADN.

El estudio ha contado con la participación de los investigadores del IDIBELL y del ICO: Purificación Muñoz, Eva González Suárez (también investigadora del CNIO); además de Oriol Casanovas y Alberto Villanueva, ambos de ProCure, y todos ellos dentro del consorcio europeo EurOPDX, en estrecha relación con el PDXnet consortium del National Cancer Institute (NCI).

La conclusión del estudio es que la progresión de los tumores en el tejido de ratón no conlleva cambios genéticos que puedan afectar al comportamiento del modelo y alejarlo del comportamiento del tumor original del paciente. De hecho, las pequeñas variaciones detectadas entre los dos grupos eran del mismo orden que las variaciones que se pueden encontrar en diferentes regiones del mismo tumor.

- Woo, X.Y., Giordano, J., Srivastava, A., et al. *Conservation of copy number profiles during engraftment and passaging of patient-derived cancer xenografts*. Nat Genet. 2021;53:86-99.

La vacuna de la COVID-19 abre una nueva vía contra la esclerosis múltiple

Palabras clave: COVID-19, esclerosis múltiple, vacunas.

BioNTech prueba con éxito en ratones una vacuna de ARN mensajero capaz de revertir una parálisis similar a la de los pacientes con esclerosis múltiple.

La idea detrás de las vacunas de ARN mensajero contra la COVID-19 es tan sencilla que sus creadores piensan que no hay límites de aplicación a otras infecciones y enfermedades. Se trata de introducir en el paciente, un mensaje genético escrito en una molécula de ARN para que sus propias células produzcan las proteínas que necesita para inmunizarse. En esa idea, se ha basado el equipo que desarrolló la primera vacuna efectiva contra el coronavirus (BioNTech), y ha publicado un estudio (aún en una fase muy inicial) en el que han revertido la esclerosis múltiple en modelos animales. Una enfermedad de la que no se conoce la causa y para la que no hay tratamiento.

Cada año se diagnostican en España 2.000 casos nuevos y esta enfermedad es la segunda causa de discapacidad adquirida en jóvenes tras los accidentes de tráfico, según la Sociedad Española de Neurología. Por causa desconocida, el sistema inmune de los pacientes afectados por esclerosis múltiple ataca al propio organismo, en concreto a la vaina protectora de los nervios, lo que puede provocar daños en el sistema nervioso central. Hay pacientes que pueden vivir toda la vida con la enfermedad y sufrir tan solo un ataque, mientras otros sufren una recaída tras otra que va deteriorando su movilidad y le predisponen a sufrir deterioro cognitivo.

En la actualidad, hay más de 10 tratamientos aprobados contra la esclerosis múltiple en humanos. Se trata de medicamentos que modulan la respuesta del sistema inmune, pero que tienen efectos secundarios, como por ejemplo reducir la efectividad de las defensas

contra otros patógenos. Algunos de los tratamientos más efectivos en la actualidad –como los anticuerpos monoclonales– que generan tolerancia a la mielina son los fármacos más caros del mundo, con un precio que puede rondar los 80.000 euros por paciente.

La científica que desarrolló la vacuna de BioNTech contra la COVID-19, **Katalin Karikó**, junto al director ejecutivo de la empresa y también científico, **Ugur Sahin**, han publicado en *Science* que una molécula de ARN mensajero puede hacer que el sistema inmune de ratones que sufren una enfermedad similar a la esclerosis múltiple aprenda a tolerar la mielina y deje por tanto de causar daños.

Los ratones tratados mostraron primero un parón en los primeros síntomas y después una reversión de la enfermedad. En algunos casos la vacuna revirtió la parálisis que sufrían los animales; y, además, los investigadores han demostrado que esta vacuna no impide que el sistema inmune de los animales pueda identificar otros patógenos.

- Krienke C., Kolb L., Diken E., et al. *A noninflammatory mRNA vaccine for treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis*. *Science*. 2021;371(6525):145-53.

HAZTE SOCIO BENEFACCTOR

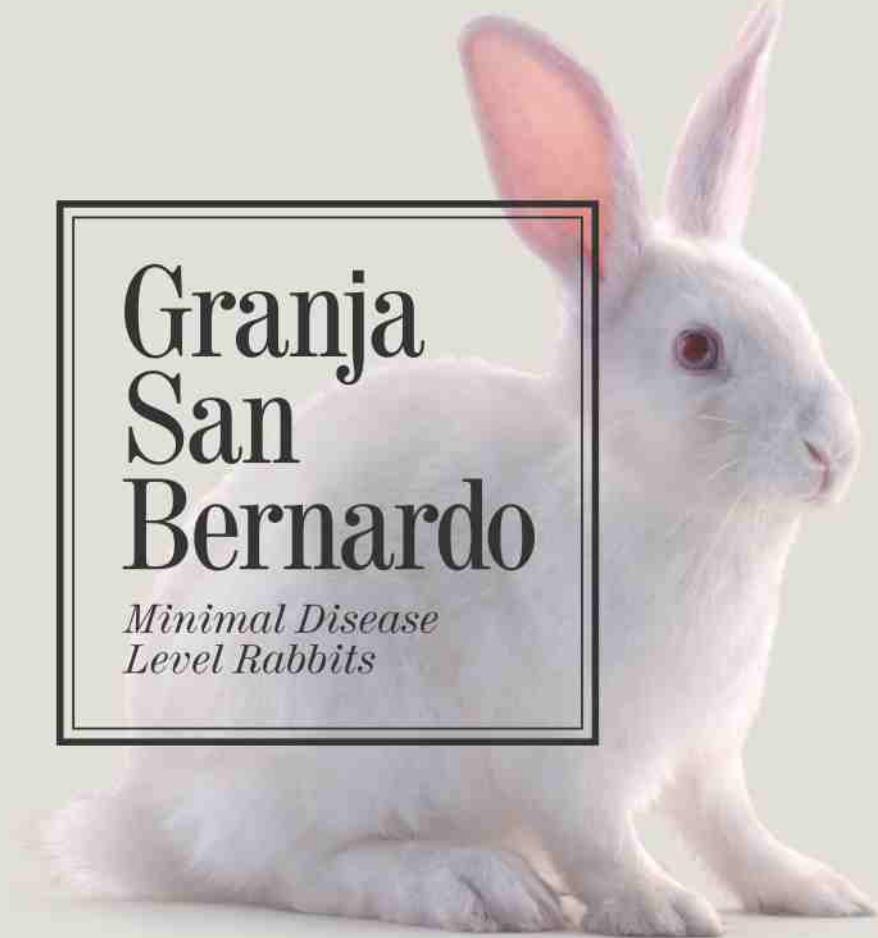
TU EMPRESA TAMBIÉN PUEDE SER PARTE DE LA SECAL



Estamos en el centro de
la investigación en habla hispana



www.secal.es



Granja San Bernardo

*Minimal Disease
Level Rabbits*

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

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

Modelos de diabetes inducida. ¿Cómo elegir el modelo correcto?

Joaquín Lilao-Garzón, Carmen Valverde-Tercedor, Silvia Muñoz-Descalzo, Ana Mª Wágner y Yeray Brito-Casillas

Instituto Universitario de Investigaciones Biomédicas y Sanitarias (IUIBS) de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC)

Palabras clave: insulina, roedor, glucemia.

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo de enfermedades que afectan al metabolismo de la glucosa. Se caracteriza por una falta de secreción de insulina por parte de las células β pancreáticas, un efecto inadecuado de esta insulina en los tejidos conocido como resistencia a la insulina, o una combinación de ambas¹.

La DM se considera una pandemia global con una prevalencia que alcanzó al 8,5% de la población en adultos mayores de 18 años en 2014, y que fue responsable de 1,6 millones de muertes en 2016 según la Organización Mundial de la Salud (OMS), siendo la séptima causa de muerte ese año².

La clasificación de la Asociación Americana de Diabetes¹, organismo de referencia en el campo, establece cuatro categorías principales:

- **DM tipo 1 (T1DM del inglés Type 1 Diabetes Mellitus)**, donde normalmente se produce una falta completa de la secreción de insulina debida a una destrucción autoinmune de las células β del páncreas.
- **DM tipo 2 (T2DM del inglés Type 2 Diabetes Mellitus)**, debida a una pérdida gradual de la secreción de insulina, causada por la resistencia de los tejidos a la misma.
- **DM gestacional (GDM del inglés Gestational Diabetes Mellitus)**, donde pese a no existir signos obvios de DM al inicio, esta se manifiesta mediante una hiperglucemia leve, normalmente durante el segundo o tercer trimestre del embarazo.
- **Grupo de tipos específicos de DM debidos a otras causas**, como por ejemplo síndromes monogénicos, enfermedades del páncreas exocrino o inducidos por drogas.

La Confederación de Sociedades Científicas de España considera vital el uso de animales de investigación para el avance de la medicina. Esto se hace especialmente importante en enfermedades sistémicas como la DM donde, a pesar de la existencia de herramientas de reemplazo, éstas siguen sin poder abarcar completamente la complejidad de esta enfermedad³.

MODELOS ANIMALES

La DM puede darse de manera espontánea en gran número de especies, incluyendo los roedores, y algunos de estos modelos espontáneos, como el ratón NOD (*Non Obese Diabetic*) o la rata BB-DP (*Biobreeding-Diabetes Prone*) han resultado clave para el estudio del proceso autoinmune que caracteriza a la T1DM. Otros modelos espontáneos son aquellos donde la acción de la hormona reguladora del apetito leptina está afectada, como la rata ZDF (*Zucker Diabetic Fat*) o los ratones mutantes *ob/ob* y *db/db*, los cuales han resultado de gran utilidad en el estudio de la T2DM. Estos ratones *ob/ob* homocigotos carecen de la hormona leptina, mientras que tanto el modelo de ratón *db/db* como el de rata ZDF carecen de su receptor⁴.

Por otro lado, los modelos de DM inducida son los más usados por ser mucho más fáciles de generar que los espontáneos y por ser más precisos a la hora de representar el fenotipo de la enfermedad observado en pacientes. Estos modelos se clasifican en³:

- **Modelos inducidos quirúrgicamente**, donde todo o parte del páncreas es extirpado de forma quirúrgica. Estos fueron los primeros modelos en desarrollarse y los que menos se utilizan actualmente por la falta de especificidad entre páncreas endocrino y exocrino durante el disecado, lo que lleva a la aparición de otros síntomas no relacionados con la DM.

TÉCNICAS

- **Modelos inducidos genéticamente**, en estos modelos se lleva a cabo la edición genética de uno o más genes. Aunque son ideales para conocer la función concreta de un gen, se trata de modelos caros de generar y necesitan más tiempo para ser creados. Además, no reproducen completamente una enfermedad tan compleja como la DM, donde tanto la genética como el ambiente juegan un papel crucial.
- **Modelos inducidos químicamente**, donde la DM se desarrolla por la destrucción de las células β del páncreas mediante compuestos químicos con afinidad, desencadenando una respuesta oxidativa letal para la célula. Se suelen emplear la estreptozotocina (STZ) o el aloxano. Estos modelos han sido ampliamente utilizados especialmente en el estudio de T1DM, por su bajo coste y la facilidad para inducir una sintomatología franca en poco tiempo.
- **Modelos inducidos por la dieta**, normalmente mediante dieta grasa (HFD). Son los más utilizados para el estudio de la T2DM, ya que permiten simular la resistencia a la insulina que se observa en la T2DM humana. Estos requieren más tiempo que los inducidos químicamente, ya que los animales son alimentados con la HFD durante algunas semanas para desarrollar la enfermedad. También pueden ser usados como inductores de la enfermedad algunos sacáridos como la

fructosa, o incluso colesterol, contribuyendo a dar complejidad al modelo.

La combinación de algunos de estos cuatro métodos permite a los investigadores el desarrollo de modelos más precisos a la hora de estudiar la enfermedad, como por ejemplo la combinación de HFD con STZ para acelerar el desarrollo de T2DM⁵.

ELECCIÓN DEL MODELO

La elección de uno de estos modelos para estudiar la DM puede resultar complicada para quien quiere investigar esta enfermedad. De hecho, en la literatura encontramos multitud de métodos generados o adaptados por diferentes autores para generar modelos de diabetes. Sin embargo, la elección del modelo debe hacerse de manera cuidadosa, atendiendo específicamente al tipo de DM en estudio, además de a las ventajas e inconvenientes de cada uno de estos métodos (ver Tabla 1). Por ejemplo, un tratamiento corto con grandes dosis de STZ permite obtener una hiperglucemia severa debido a la destrucción de células β , un resultado que podría resultar ideal para el estudio de la T1DM, pero no de la T2DM. Por otro lado, el uso de HFD con el objetivo de inducir T1DM se desaconsejaría, ya que con este tipo de dietas solo se conseguiría una hiperglucemia entre leve y moderada, debida principalmente a la presencia de resistencia a la insulina (ver Figura 1).

Tabla 1.-Ventajas e inconvenientes de los modelos animales inducidos para el estudio de DM.

TIPOS DE MODELOS INDUCIDOS	QUIRÚRGICOS	GENÉTICOS	QUÍMICOS	DIETÉTICOS
VENTAJAS	Uso en gran número de especies. Permite ajustar la severidad de la DM. Permite conseguir hiperglucemia moderada y severa. Rápido de generar.	Permite el estudio concreto de un gen en el desarrollo de la DM.	Uso en gran número de especies. Versátil para T1DM o T2DM dependiendo de la estrategia de administración. Método de bajo coste. Específico en cuanto a la pérdida de células β . Rápido de generar.	Uso en gran número de especies. Permite modelar la interacción entre la genética y el ambiente. Gran similitud con la etiología de la T2DM en humanos.
DESVENTAJAS	Muy invasivo. Requiere personal experimentado. Enfermedades colaterales debido a la pérdida de otras células endocrinas y del páncreas exocrino. Alta mortalidad.	Limitado número de especies. Aunque nuevas tecnologías han permitido su aumento. Pérdida de la heterogeneidad en la población. Posible mortalidad y enfermedades colaterales. Lento y caro de generar.	Falta de resistencia a la insulina en T2DM. Falta de proceso autoinmune en T1DM. Efectos reversibles en ciertos casos. Posible toxicidad en otros órganos. Respuesta variable incluso dentro de la misma especie.	Respuesta heterogénea. Solo hiperglucemia leve. Proceso moderadamente lento.

TIPOS DE MODELOS INDUCIDOS	QUIRÚRGICOS	GENÉTICOS	QUÍMICOS	DIETÉTICOS
TIPO DE DM	T1DM, T2DM y GDM.	T1DM, T2DM, GDM y otros tipos de DM como monogénicas.	Principalmente T1DM, pero también T2DM y GDM.	Principalmente T2DM, pero también GDM.

DM: Diabetes Mellitus; T1DM: Diabetes Mellitus Tipo 1; T2DM: Diabetes Mellitus Tipo 2; GDM: Diabetes Mellitus Gestacional.

Adaptada de⁴.

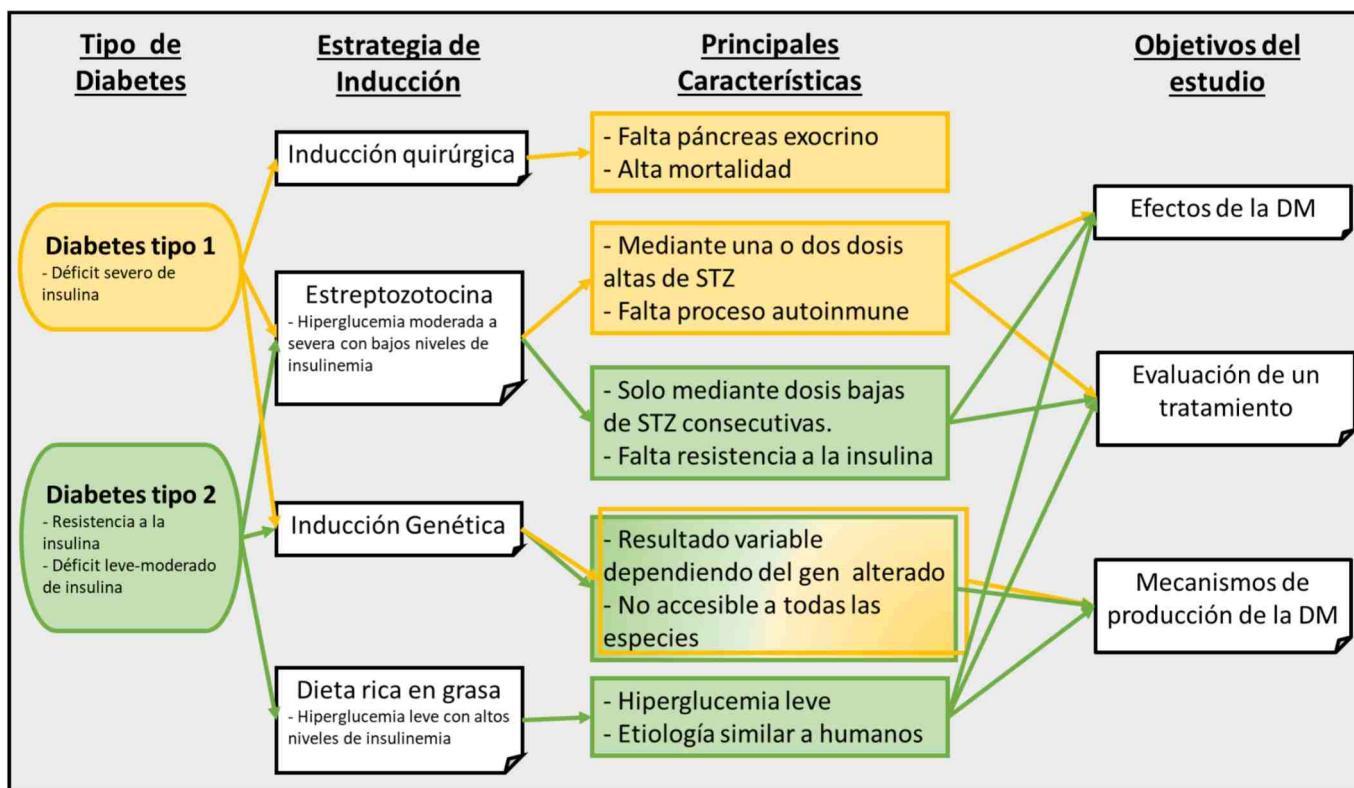


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Estrategia de inducción en función del tipo de DM y el objetivo del estudio. En este sentido, existe un gran número de publicaciones científicas en las que la selección del modelo de diabetes no suele detallarse, ni justificarse, tratándose a la DM como una enfermedad única, sin tener en cuenta importantes especificidades de cada tipo de DM.

Debido a estas ventajas e inconvenientes (ver Tabla 1) de cada modelo, la selección de uno de ellos es clave en función del tipo de DM en estudio y ha convertido a los modelos químicos, especialmente, el tratamiento con STZ, y aquellos basados en HFD en los dos modelos más utilizados en la actualidad. Estas dos estrategias, por lo general, son las más sencillas para generar un modelo de DM, pero su simplicidad junto con la falta de exactitud

en la evaluación de la glucosa ha llevado a la existencia de un extenso rango de condiciones y protocolos. La heterogeneidad en los protocolos queda patente en la bibliografía (ver Tablas 2 y 3). Aunque es bueno que cada laboratorio establezca empíricamente un modelo que se ajuste a sus necesidades, esto dificulta en gran medida la replicación de los resultados y la comparación de resultados obtenidos.

TÉCNICAS

MODELOS INDUCIDOS POR STZ

En este caso existen dos aproximaciones mayoritarias a la hora de desarrollar un modelo mediante el tratamiento con STZ (ver Tabla 2). Por un lado, una estrategia es utilizar hasta cinco administraciones de dosis bajas de STZ, en torno a 50 mg/kg de peso, en días consecutivos. Mediante este protocolo se observa una hiperglucemia entre leve y moderada similar a la que se puede observar en la T2DM, pero en este caso es causada por una

destrucción gradual de las células β pancreáticas como ocurre de forma espontánea en la T1DM, sin incluir la resistencia a la insulina.

Por otro lado, otra estrategia consiste en la inyección de una o dos dosis altas de STZ, entre 180 y 250 mg/kg de peso. Este protocolo permite una destrucción rápida y casi completa de las células β pancreáticas y es una de las estrategias más ampliamente utilizadas para el estudio de la T1DM.

Tabla 2.- Ejemplos de protocolos para la generación de modelos diabéticos con STZ.

DOSIS DE STZ (mg/kg)	NÚMERO DE INYECCIONES IP	CEPA DE RATÓN	TIPO DE DM INDUCIDA SEGÚN LOS AUTORES		
50	1	ICR	DM inducida en neonatos		
50	5	C57BL/6	T1DM		
50	5	C57BL/6	Hiperglucemia definida por glucosa >300 mg/dl sin ayuno		
50	5	C57BL/6	Definido como dosis subdiabetogénica de STZ		
150	1	C57BL/6	Combinado con HFD para generar T2DM		
180	1	C57BL/6	T1DM		
60	1	C57BL/6	DM inducida en neonatos		
35	5	ICR	T1DM causada por insulinitis gradual		
240	1	Kunming	T1DM definida por glucosa >198 mg/dl con ayuno		
100	2	C57BL/6, ICR	Definida como DM leve		
100+80	1+1	C57BL/6	Combinado con HFD y modelo genético para generar T2DM		
75	3	Kunming	DM definida por glucosa >288 mg/dl		
190	1	C57BL/6	DM pregestacional definida por glucosa >240 mg/dl sin ayuno		
230	1	CD1	DM pregestacional definida por glucosa >306 mg/dl sin ayuno		
50	5	C57BL/6	T1DM pregestacional definida por glucosa >200 mg/dl sin ayuno		
75	3				
STZ: Estreptozotocina; DM: Diabetes Mellitus; HFD: Dieta rica en grasa (del inglés <i>High Fat Diet</i>); IP: intraperitoneal; T1DM: Diabetes Mellitus Tipo 1; T2DM: Diabetes Mellitus Tipo 2.					
Adaptada de ³ .					

MODELOS INDUCIDOS POR HFD

A la hora de inducir DM mediante cambios en la dieta también se han propuesto distintas aproximaciones. Para la más utilizada, se cambia la dieta normal (ND) por una dieta enriquecida con hasta un 80%⁶ de grasa (HFD, del inglés *High Fat Diet*) durante 12 semanas⁷. Otras aproximaciones surgen de la combinación de HFD con fructosa (HFHF) por ejemplo⁸. En este caso se trata de generar un modelo de T2DM de modo similar a como ésta se

genera en humanos, especialmente cuando la T2DM está muy relacionada con las modernas dietas *Fast Food* ricas en grasas y bebidas azucaradas.

En este caso, también hay una gran heterogeneidad en los protocolos tanto en la edad de los animales al comienzo del cambio de dieta como en la duración del tratamiento o incluso el porcentaje de grasa de la misma (ver Tabla 3).

Tabla 3.-Ejemplos de protocolos utilizados en artículos recientes para la generación de modelos diabéticos basados en HFD.

CEPA DE RATÓN	EDAD RATÓN (sem)	TIEMPO DE DIETA (sem)	DIETA	TIPO DE DM INDUCIDA SEGÚN LOS AUTORES	AÑO PUBLICACIÓN	REFERENCIA
C57BL6/J	6	9	60% HFD	Resistencia a la insulina. Alteraciones metabólicas inducidas por dieta son dependientes del sexo.	2020	9
C57BL6/J	5	16 +6	40% HFD	Hiperglucemia sin signos de resistencia a la insulina.	2019	10
C57BL6/J	6	8	60% HFD	Hiperglucemia acompañada de resistencia a la insulina	2019	11
C57BL6/J	8	14	60% HFD	Resistencia a la insulina inducida tras 12 semanas de dieta.	2019	12
C57BL6/J	6	8 16	60% HFD	Pre-diabetes en 8 y en 16 semanas. Severidad aumenta con el tiempo de dieta.	2019	13
C57BL6/J	8	8	45% HFD	T2DM tras 8 semanas de dieta únicamente en machos y no en hembras.	2019	14
C57BL6/J	18	7	35% HFD	Hiperglucemia causada por la HFD.	2018	15
C57BL6/J	4	12	35.5% HFD	Hiperglucemia y sensibilidad a la insulina.	2017	16

MODELOS DE DIABETES GESTACIONAL

En mayor o menor medida, todas las aproximaciones vistas hasta ahora son susceptibles de ser utilizadas para inducir diabetes gestacional³. Aunque el problema de la falta de homogeneidad en un protocolo concreto persiste, como ocurre en la inducción de DM mediante STZ y HFD. En este caso, una de las aproximaciones que mejor reproduciría la enfermedad sería mediante la combinación de ambas, realizando un cambio en la alimentación del animal a HFD que desarrolle la resistencia a la insulina para, a continuación, realizar un tratamiento a dosis bajas de STZ que acelere la destrucción de las células β del páncreas antes de llevar a cabo el apagado, que ocasiona una hiperglucemia transitoria durante la gestación¹⁷.

OTRAS CONSIDERACIONES

Un aspecto que destacar dentro de esta falta de estandarización respecto al modelo, y las diversas adaptaciones a la hora de generararlo, son las determinaciones de la glucemia en roedores. Éste es un problema muy relevante al que apenas se le presta atención¹⁸. El análisis de la glucemia de forma rápida y con poco volumen de sangre hace necesario el uso de glucómetros. Normalmente se emplean los destinados para humanos, porque son accesibles (en España se dan de forma gratuita), y miden de manera rápida y sencilla. Sin embargo, el criterio para elegir estos aparatos suele ser la propia accesibilidad al mismo y a sus tiras reactivas. No obstante, la falta de exactitud entre estos sistemas y la técnica de referencia para la determinación de la glucemia, puede ser importante¹⁹. A esta situación se suma el hecho de que en muchas ocasiones los autores no aportan ni si quiera el modelo de glucómetro usado en su trabajo, facilitando a veces tan sólo la casa comercial.

La falta de criterio en esta elección y en el reporte de datos posterior, afecta a la reproducibilidad de los resultados entre laboratorios. La importancia en estas diferencias es tal, que dos modelos de una misma casa comercial, en una medida puntual de glucemia, pueden ofrecer un valor normal de glucosa o uno diagnóstico de DM. Algo que ocurre en animales, e incluso cuando son

usados en humanos, como especie de destino^{19,20}. Por esta variabilidad analítica, incluso los estándares de fabricación obligan a evaluar unidades diferentes del mismo modelo simultáneamente^{19,21}.

Además, en el caso de los roedores, si se basa el diagnóstico de la DM y su evolución en medidas puntuales de la glucemia, no existe una definición actual consensuada de cuál es el punto de corte para considerar a un roedor como diabético (ver Tabla 2). Ello constituye un tema de debate recurrente en múltiples foros científicos, y resultando complicado consensuar cuando, además, existe tanta disparidad entre los aparatos de medida usados²². Normalmente, se asume un valor diagnóstico de diabetes que muchas veces es arbitrario, para cada modelo, y que se determina tras un período de ayuno, que también varía según el autor²³. Una recomendación útil al enfrentarse a un modelo de diabetes, sería no limitarse a considerar como alta, normal o baja una determinación concreta, sino que, en cada modelo, con el mismo glucómetro y tiempo de ayuno, se compare la glucemia obtenida frente a controles sanos. Alternativamente, si se está realizando un seguimiento del modelo, se deben comparar los valores de glucemia obtenidos antes de la inducción de la enfermedad. En este caso, y como referencia general, podría definirse la presencia de diabetes si entre ambos grupos existe una diferencia de dos veces la desviación estándar respecto a la media²⁴.

CONCLUSIONES

La DM se ha convertido en un problema sociosanitario de gran relevancia en sociedades modernas tanto por su alta frecuencia como por sus consecuencias, lo que ha provocado un gran incremento en las investigaciones científicas en esta área. De acuerdo con PubMed, solo en el año 2019 se publicaron hasta 24.805 artículos mencionando Diabetes Mellitus.

A pesar del gran avance realizado en nuevas tecnologías de reemplazo, gran cantidad de estas investigaciones siguen dependiendo del uso de animales de investigación, fundamentalmente roedores. La facilidad del uso de estos modelos y la extensa bibliografía existente lleva en ocasiones a los

TÉCNICAS

investigadores a utilizar protocolos erróneos para la inducción de la DM, normalmente, asociados a la falta de profundidad en el conocimiento global de la enfermedad.

Por todo ello es necesario tomar en consideración las siguientes cuestiones a la hora elegir, diseñar y llevar a cabo los estudios³:

- Fijar el objetivo del estudio, ¿qué tipo de DM se va a estudiar? T1DM, T2DM, GDM u otras.
- Elegir los modelos de acuerdo al objetivo, ¿qué especie es más adecuada a nuestro objetivo?, ¿qué mecanismo de inducción refleja mejor la enfermedad o los signos que queremos valorar?, ¿cuál es el mejor momento para llevar a cabo la inducción?....
- Y, finalmente, si se hace uso de glucómetros para medir la glucemia, es recomendable siempre monitorizar la evolución de la enfermedad de manera comparada con un grupo control sin DM, sobre todo cuando se busca desarrollar una hiperglucemia leve o moderada en T2DM, y menos, quizás, para más severa en T1DM.

En definitiva, parece evidente que en la investigación en DM es necesario aún establecer unos estándares metodológicos y específicos en el reporte de información, que permitan fomentar la traslacionalidad y reproducibilidad de los resultados entre laboratorios.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Diabetes Association. *Diagnosis and classification of diabetes mellitus, ADA Clinical Practice Recommendations*. Diabetes Care 36 Suppl 1, S67-74 (2013).
2. The top 10 causes of death. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
3. Lilao-Garzón J., Valverde-Tercedor C., Muñoz-Descalzo S., et al. *In Vivo and In Vitro Models of Diabetes: A Focus on Pregnancy*. Adv Exp Med Biol. 2021;1307:553-76.
4. Brito-Casillas Y., Melián C., and Wágner A. M. *Study of the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus through animal models*. Endocrinol y Nutr. 2016;63:345-53.
5. Song B., Scheuner D., Ron D., et al. *Chop deletion reduces oxidative stress, improves β cell function, and promotes cell survival in multiple mouse models of diabetes*. J Clin Invest. 2008;118:3378-89.
6. Hu S., Wang L., Yang D., et al. *Dietary Fat, but Not Protein or Carbohydrate, Regulates Energy Intake and Causes Adiposity in Mice*. Cell Metab. 2018;28:415-31.e4.
7. Surwit R.S., Kuhn C.M., Cochrane C., et al. *Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice*. Diabetes. 1988;37:1163-7.
8. Lozano I., Vand der Werf R., Bietiger W., et al. *High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications*. Nutr Metab. 2016. doi:10.1186/s12986-016-0074-1.
9. Michlin M., Argaev-Frenkel L., Weinstein-Fudim L., et al. *Maternal n-acetyl cysteine intake improved glucose tolerance in obese mice offspring*. Int J Mol Sci. 2020;21.
10. McPherson N. and Lane M. *Metformin treatment of high-fat diet-fed obese male mice restores sperm function and fetal growth, without requiring weight loss*. Asian J Androl. 2020;22(6):560-8.
11. Zhang Y.J., Zhao H., Dong L., et al. *Resveratrol ameliorates high-fat diet-induced insulin resistance and fatty acid oxidation via ATM-AMPK axis in skeletal muscle*. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2019;23:9117-25.
12. Raza G.S., Maukonen J., Makinen M., et al. *Hypocholesterolemic Effect of the Lignin-Rich Insoluble Residue of Brewer's Spent Grain in Mice Fed a High-Fat Diet*. J Agric Food Chem. 2019;67:1104-14.
13. Xu D., Jiang Z., Sun Z., et al. *Mitochondrial dysfunction and inhibition of myoblast differentiation in mice with high-fat-diet-induced pre-diabetes*. J Cell Physiol. 2019;234:7510-23.
14. Nyavor Y., Estill R., Edwards H., et al. *Intestinal nerve cell injury occurs prior to insulin resistance in female mice ingesting a high-fat diet*. Cell Tissue Res. 2019;376(3):325-40.
15. Fougerat A., Pan X., Smutova V., et al. *Neuraminidase 1 activates insulin receptor and reverses insulin resistance in obese mice*. Mol Metab. 2018;12:76-88.
16. Chang G.R., Chen W.K., Hou P.H., et al. *Isoproterenol exacerbates hyperglycemia and modulates chromium distribution in mice fed with a high fat diet*. J Trace Elem Med Biol. 2017;44:315-21.
17. Li H.Y., Liu Y.X., Harvey L., et al. *A mouse model of gestation-specific transient hyperglycemia for translational studies*. J Endocrinol. 2020;244:1:501-10.
18. Togashi Y., Shirakawa J., Okuyamma T., et al. *Evaluation of the appropriateness of using glucometers for measuring the blood glucose levels in mice*. Sci Rep. 2016;6:1-9.
19. Brito-Casillas Y., Figueirinhos P., Wiebe J.C., et al. *ISO-Based Assessment of Accuracy and Precision of Glucose Meters in Dogs*. J Vet Intern Med. 2014;28:1405-13.
20. Morley L.A., Gomez T.H., Goldman J.L., et al. *Accuracy of 5 Point-of-Care Glucometers in C57BL/6J Mice*. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2018;57:44-50.
21. Brito Casillas Y., Expósito-Montesdeoca A.B., Sánchez M., et al. *Glucose meters in diabetes research: accuracy evaluation of portable blood glucose meters in mice*. 55th Annual meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD); 2019;16-20.
22. *What blood glucose level is considered diabetic in mice?* https://www.researchgate.net/post/What_blood_glucose_level_is_considered_diabetic_in_mice.
23. Han B.G., Chuang-Ming H., Tchekneva E., et al. *Markers of glycemic control in the mouse: Comparisons of 6-h-and overnight-fasted blood glucoses to Hb A1c*. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2008;295(4):E981-6.
24. Cardinal L.J. *Determining true difference between treatment groups*. J. Community Hosp Intern Med Perspect. 2016;6(1):30284.

Escasez de macacos para investigación: ¿efecto inesperado de la pandemia?

Javier Guillén^{1,2}

¹Director Europa & Latin America, AAALAC International

²Junta de Gobierno, EARA

Palabras clave: proyectos, suministro, primates.

Esta pandemia tiene muchas derivadas con impacto en nuestro mundo de la experimentación animal. Por una parte, nos hemos visto beneficiados porque nunca antes se había informado tanto sobre el papel tan fundamental que la experimentación animal, en su conjunto, desempeña en los avances científicos y su aplicación para el beneficio de las personas, en este caso en el desarrollo de vacunas, tratamientos y equipos. Pero hay otros efectos negativos, uno de los cuales –no muy visible a corto plazo porque directamente afecta a un número limitado de instituciones– es la escasez de macacos (tanto Rhesus como Cynomolgus) para investigación, justo en el momento en el que su participación se ha demostrado más importante. Por ejemplo, la vacuna Pfizer/BioNTech frente a SARS-CoV-2, que fue la primera aprobada por la Comisión Europea el pasado 21 de diciembre, se basó en datos preclínicos generados por BioNTech en Alemania usando macacos Rhesus. También las vacunas de Oxford/AstraZeneca y Janssen se han basado en estudios preclínicos con macacos para demostrar seguridad y eficacia. Todo este esfuerzo se ha repartido en estudios realizados en Europa y Estados Unidos (EE. UU.). Sin embargo, ahora la comunidad científica, tanto europea como norteamericana, carece del suministro de macacos necesarios para continuar con estos y otros estudios de vital importancia.

¿Por qué sucede esto? Porque desde principios de 2020, al confirmarse la pandemia, China detuvo la exportación de estos animales. La primera comunicación se hizo el 26 de enero de 2020¹. En la Unión Europea, los macacos procedentes de China suponen casi el 25% de los utilizados cada año, porcentaje que en EE. UU. sube hasta el 60% (unos 35.000 animales anuales). Según el informe estadístico de la Comisión Europea de 2017², 2.164 de los 8.235 primates utilizados fueron importados de Asia (31,7%), por lo que, asumiendo la regla general de que el 75% de los primates asiáticos vienen de China, el 23,7% del total sería de origen chino. Esta medida, que al principio se vio con buenos ojos en Occidente

como medida preventiva para frenar la expansión del virus, está empezando a tener efectos muy preocupantes, y a estar interpretada de una forma muy distinta. ¿Por qué China mantiene el cierre a la exportación de macacos a Occidente?

Todos sabemos que en la última década ha habido una deslocalización de empresas relacionadas con la investigación animal hacia Asia, China principalmente, debido en parte a mejores costes, y en parte a una legislación menos restrictiva. Ahora, cada vez hay más gente que piensa que esta medida es una estrategia del Gobierno chino para “ahogar” las posibilidades de investigación con estos animales en el mundo occidental y seguir promocionando la investigación en su país, con el consiguiente desarrollo tecnológico y económico que esto representa. Por eso, la comunidad científica expresa su preocupación³.

Por su parte, EARA (www.eara.eu) ya ha actuado al respecto enviando una carta a la Comisión Europea⁴ en la que incide en la posible violación por parte de China de algunos artículos de los tratados GATT de la Organización Mundial del Comercio⁵. Por ejemplo, el artículo XX(b) del GATT permite medidas fuera del acuerdo cuando sea necesario para proteger la vida o salud humana. Esto, que en principio podría interpretarse de forma correcta para limitar la propagación de la pandemia a través de los animales, se ha demostrado que es lo contrario; ya que, además de no haber ningún indicio de que el movimiento de estos animales muy bien controlados propague la pandemia, está limitando la investigación precisamente destinada a proteger la vida humana.

La escasez de animales está suponiendo una dificultad extrema para conseguirlos, y un notable encarecimiento. El suministro proveniente de otras regiones con numerosos centros de cría (como Islas Mauricio, gran proveedor de muchas instituciones europeas) se muestra insuficiente para atender la

ÉTICA Y LEGISLACIÓN

actual demanda, creciente debido a los estudios relacionados con la pandemia. En un caso real sucedido en España en febrero de este año, una institución tenía una oferta sobre un lote de 48 animales, cuando la institución dio la conformidad 24 horas después ya fue demasiado tarde porque ya habían sido asignados a otra institución.

Numerosos proyectos pueden quedar sin poder llevarse a cabo, o como lo que muchos anticipan, pueden acabar siendo llevados a cabo en China. La cuestión es si a esta situación se ha llegado de forma inesperada o de forma planificada...

Para saber más:

1. http://www.xinhuanet.com/english/2020-01/26/c_138735496.htm
2. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/ PDF/?uri=CELEX: 52020DC0016&from=EN>
3. <https://unherd.com/2021/02/chinas-plan-for-medical-domination/>
4. https://mcusercontent.com/f06d4e3bcff1a29b0eb102c6f/files/eeb0fcf5-5800-4572-ae37-ac8b41801851/EARA_NHP_Ban.pdf?mc_cid=89e0e5069d&mc_eid=ffb2f0af6d
5. https://www.wto.org/english/docs_e/legal_e/06-gatt_e.htm

En nuestro animalario,
primero
el Bienestar
Animal.



Manipulación de cerdos y ovejas en el mundo de la investigación

Àngel Manuel Lorente Cobo, Moisés Cuadrado Lavado y Albert Cored Sala
Personal cuidador y técnico, Unidad de Cirugía Experimental (ESU), Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR)

Palabras clave: cerdos, ovejas, bienestar.

La mayoría de las personas cuando piensan en animales de laboratorio destinados a investigación científica visualizan la típica imagen de pequeñas jaulas con ratas, ratones, cobayas o incluso conejos. A muy pocos se les pasa por la mente el uso habitual, para estos mismos fines, de los animales comúnmente denominados "de granja", tales como cerdos u ovejas. En cambio, estos se utilizan en experimentación sirviendo de modelo animal para muchas especialidades médicas. En la Unidad de Cirugía Experimental del VHIR, ubicada en Barcelona, tenemos una larga trayectoria en el manejo y cuidado de cerdos y ovejas en diferentes procedimientos, desde cirugía ginecológica u ortopédica a radiología intervencionista.

Las diferencias evidentes en relación al tamaño marcan, en parte, algunas características del manejo y de la estabulación. No es lo mismo manipular un ratón, que cabe en la palma de la mano, que un cerdo, que puede pesar más que un ser humano. Por otro lado, debemos tener en cuenta las diferencias de comportamiento intrínsecas de cada especie; es primordial tanto para cuidar del bienestar de los animales como de la seguridad del personal cuidador durante la manipulación de estos.

Tenemos muy claro que los beneficios del bienestar animal van más allá del estricto cumplimiento de la normativa. Además de garantizar su bienestar a través de las características de la instalación en sí, como puede ser el espacio, la temperatura y la humedad, prestamos especial atención al enriquecimiento ambiental, de manera que permita a los animales comportarse de la forma más parecida a como lo harían en su medio natural. Es crucial dedicar esfuerzos y disponer de un equipo bien entrenado, así como tener buenos protocolos de enriquecimiento ambiental de cara al cuidado del animal y óptimos resultados para el estudio (ver Figura 1).

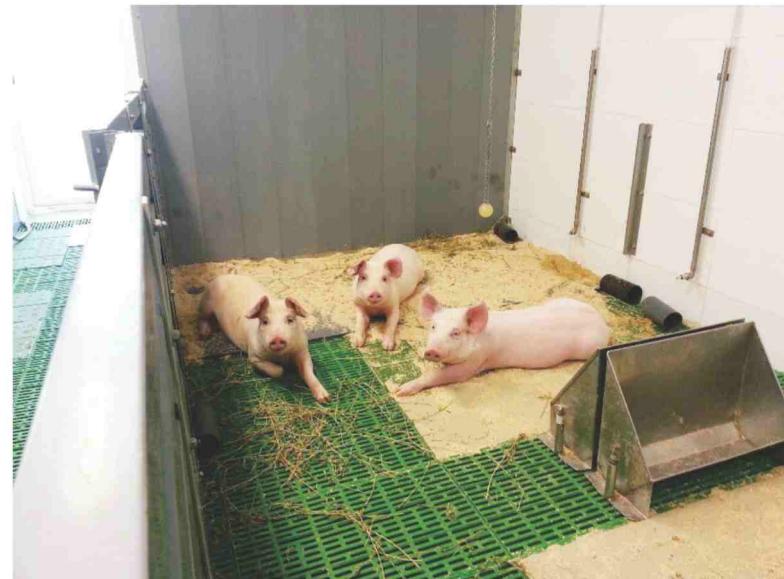


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Disponibilidad de elementos de enriquecimiento ambiental en cerdos (juguete, viruta).

Tener en cuenta las particularidades de cada especie es un punto clave para la mejora de su manejo. Los cerdos, por ejemplo, son animales extremadamente curiosos e inteligentes. Tenemos diferentes tipos de enriquecimiento ambiental que, en conjunto, optimizan su bienestar. Tienen acceso diario a las cadenas metálicas colgantes y viruta, favoreciendo su instinto natural de hocquear el suelo y morder. La instalación también dispone de placas calefactoras en el suelo, les encanta echarse una siesta sobre ellas después de comer. Para estimular su lado más curioso y que disfruten del tiempo libre entre siesta y siesta, hacemos rotación semanal de juguetes (tubos, trozos de manguera,

AL CUIDADO

pelotas). Principalmente para los animales que pasan largos períodos de tiempo en nuestra instalación suministramos terrones de azúcar, trozos de fruta o cubitos de hielo para que se entretegian y refuerzen el vínculo con nosotros (ver Figura 2). Aunque esto no excluye que siempre sientan más curiosidad por las botas y ropa del personal que entra en la zona de estabulación.



Imagen suministrada por la autora

Figura 2.- Refuerzo del vínculo en minipig con fruta.

El cerdo, aunque le gusta estar en grupo, es una especie que tolera bien el hecho de estar individualizado, una ventaja en los procedimientos postquirúrgicos que lo requieran. Otro hecho a tener en cuenta en el manejo de los porcinos, es que es difícil mezclar animales de lotes diferentes en un corral.

Mientras las ovejas son animales gregarios y no recomendamos una estabulación individualizada. Se podría decir que el principal enriquecimiento ambiental de las ovejas consiste en mantenerlas juntas. En nuestra instalación hemos notado que, algunas ovejas tienen preferencia por tumbarse y rumiar sobre las placas calefactoras del suelo y se las ve muy a gusto.

Hay otro aspecto del comportamiento de los ovinos que siempre tenemos que tener en cuenta: en la naturaleza juegan un papel de presa ante innumerables depredadores, así que siempre intentan huir cuando alguien se les acerca. Hay que considerar que son animales muy ágiles, por lo que si se sienten amenazados son capaces de correr muy rápido hacia cualquier dirección y saltar casi cualquier tipo de obstáculo que se encuentren a su paso. Es

esencial mantener siempre con ellos una actitud calmada, evitando los movimientos bruscos, alzar la voz y los ruidos repentinos y fuertes. Después de algún tiempo estabuladas, las ovejas llegan a acostumbrarse a nuestra presencia, pudiendo animarse en ocasiones a comer de nuestra mano o incluso dejarse rascar la cabeza y el cuello de manera cariñosa (ver Figura 3).



Imagen suministrada por la autora

Figura 3.- Ovejas y sus cuidadores.

Por otro lado, el instinto defensivo de las ovejas les hace disfrazar sus síntomas para no mostrar debilidad. Debido a esto, es muy importante realizar una observación indirecta. Nosotros disponemos de un circuito de cámaras de vigilancia, con la finalidad de controlar y recabar más datos sobre su comportamiento real, sin presencia del personal. De esta manera es factible extraer unas conclusiones más fiables sobre su verdadero estado de ánimo y de salud. No sería algo anormal detectar, a través de las cámaras de seguridad, una oveja apática y/o apartada del rebaño que cuando entramos en la zona de estabulación se une al grupo, ocultando sus síntomas. Saber interpretar el lenguaje corporal de los animales es una de nuestras tareas clave como personal cuidador, ya que este nos puede indicar que algo pasa.

Otra diferencia de manejo entre estas dos especies, es que, en la ESU, los cerdos también disponen de una zona vallada exterior donde, bajo vigilancia, pueden disfrutar de pequeños placeres como echarse una siesta al calor del sol, sentir la brisa del aire, jugar entre ellos o tomar un baño relajante de agua tibia. Son cosas sencillas, pero que optimizan su bienestar. En cambio, las ovejas no tienen acceso a esta zona exterior abierta por riesgo de huida, ya que podrían saltar la valla con suma facilidad.

En cuanto a la manipulación, también vemos diferencia entre las dos especies. En procedimientos que requieren una manipulación más constante del cerdo, utilizamos el enriquecimiento ambiental extra también como refuerzo positivo. Ese proceso debe empezar durante el periodo de aclimatación del animal porque, aunque los cerdos con el paso de los días se muestran con una actitud cercana y amigable hacia el personal, se estresan fácilmente a la hora de manipularlos. Por ejemplo, diariamente dejamos que se acerquen, los acariciamos y les damos terrones de azúcar, para después tocar la parte del cuerpo que iremos a manipular (ver Figura 4). Con el uso de herramientas sencillas como ésta, podemos reducir el estrés que ocurrirá al comprobar el estado de la herida durante el periodo postoperatorio. Por otro lado, en los cerdos se podría requerir sedación previa para según qué tipo de manipulación. En cambio, es posible realizar varias manipulaciones o incluso una ecografía en ovejas con una correcta sujeción.



Imagen suministrada por la autora

Figura 4.- Socialización con cerdos mediante terrones de azúcar.

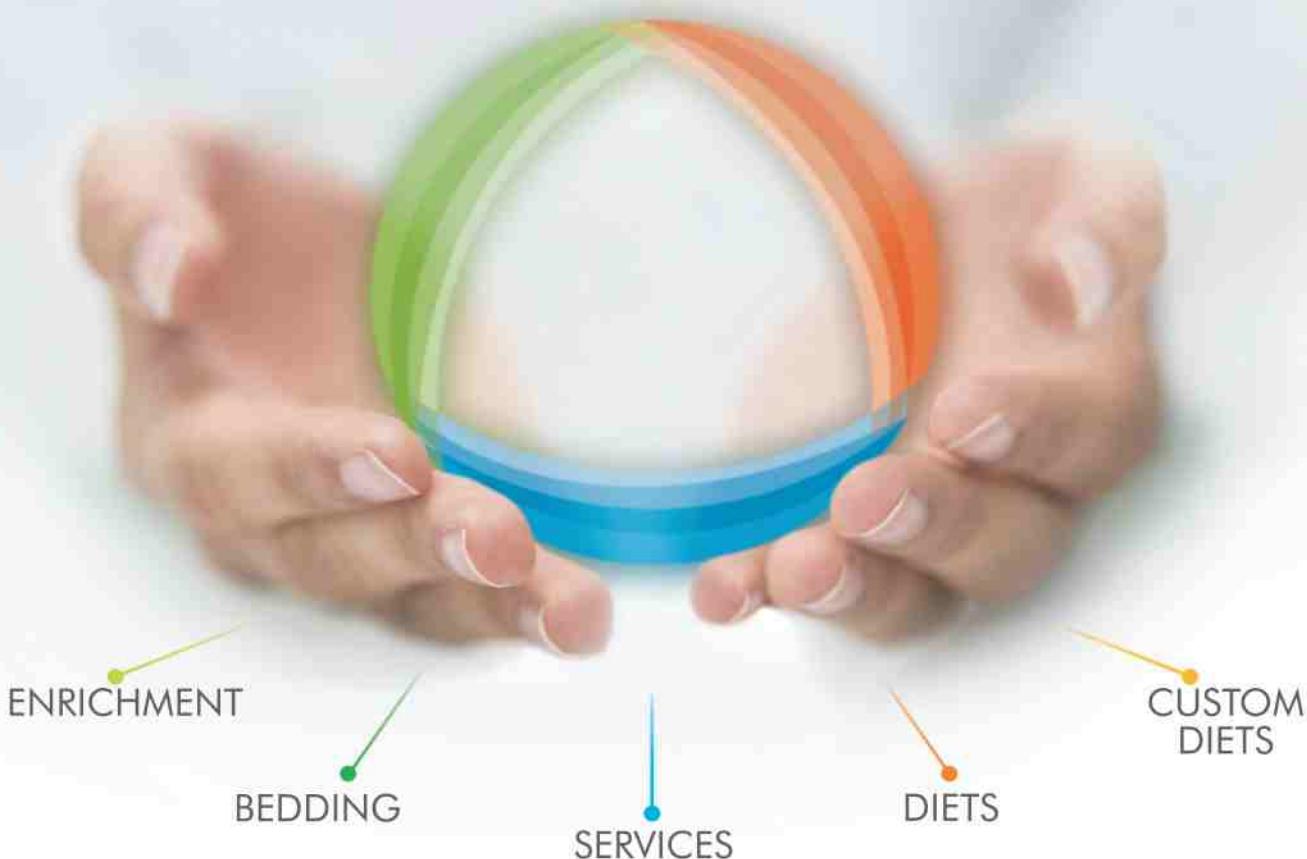
Observar atentamente a los animales, conocer bien el comportamiento de cada especie, recibir formación continua y la constante comunicación con todo el equipo de la ESU, nos permite reaccionar de forma rápida y eficiente ante cualquier posible incidencia; desde comunicar inmediatamente al personal veterinario la presencia de síntomas anómalos al hecho de actuar con proactividad cambiando el juguete porque hemos detectado que al cerdo no le gusta más. En nuestro equipo sabemos que, a menudo, son los pequeños detalles los que marcan la diferencia del desarrollo del proyecto de investigación que se esté llevando a cabo y del buen trato al animal.

HAZTE SOCIO BENEFACCTOR
TU EMPRESA TAMBIÉN PUEDE SER PARTE DE LA SECAL

**ESTAMOS
EN EL CENTRO DE
LA INVESTIGACIÓN
EN HABLA
HISPANA.**



Asegurando su Investigación



Su Colaborador para el
Cuidado del Animal de Laboratorio

Experimente la diferencia: soluciones
completas para su trabajo de investigación.
Benefícese de la competencia del fabricante
en las ciencias del animal de laboratorio.

Quality. Reliability. SAFEtty.



OSAFE
COMPLETE CARE COMPETENCE

Diets
Custom Diets
Bedding
Enrichment
Services



DIETS

CUSTOM DIETS

BEDDING

ENRICHMENT

La gestión de la pandemia en un animalario, todo un desafío

Isabel Blanco Gutiérrez

Presidenta de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL) y veterinaria responsable del animalario del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid. (Animalario gestionado por Vivotecnia Research S.L.)

Palabras clave: estado de alarma, coronavirus, animalario.

El año 2020 será para siempre recordado como el año de la pandemia, de los planes de contingencia, de la incertidumbre, de los miedos; pero también, de la responsabilidad, el buen hacer y el compromiso con el trabajo que realizamos en los centros de investigación, concretamente en los animalarios.

En marzo, la revista *Science* publicaba un artículo sobre la eutanasia en EE. UU. de miles de ratones en respuesta a la pandemia de coronavirus¹, enfatizando en el titular “Es desgarrador”. Y no es el único, con pocos días de diferencia encontramos otro –esta vez en *Nature*– que nos narraba situaciones dramáticas vividas dentro de los animalarios². Digo dramáticas sin exagerar, porque para los que trabajan cotidianamente con animales, es absolutamente desgarrador que en un solo día se tenga que echar por tierra todo el esfuerzo y el trabajo de meses, y se tenga que eutanasiar a los seres vivos que debemos proteger. Menos mal, que en España podemos afirmar que la situación fue totalmente diferente, donde todos los esfuerzos fueron encaminados a garantizar que el trabajo en los animalarios se hiciera con seguridad plena para las personas y para los animales, sin recurrir a la eutanasia como prioridad; asegurando por y sobre todo, los estándares de bienestar animal.

El artículo 6 del RD 53/2013 obliga a tener a disposición de la autoridad competente un plan de actuación de emergencia o catástrofe que contemple medidas en relación con los animales alojados, y que esté en coordinación con el resto de planes de emergencia del centro de trabajo. A pesar de ello, muy pocos animalarios tenían elaborado un plan para este tipo de emergencia y la actuación rápida y coordinada era fundamental para garantizar el éxito o el fracaso.

Antes de seguir adelante y relatar nuestra experiencia, es importante describir el animalario del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Es un establecimiento de aproximadamente 3.000 metros cuadrados con una capacidad

para unos 60.000 ratones. En 2020, el número de animales que había estabulados era de 45.000 ratones, en su mayoría animales modificados genéticamente. En esta instalación trabajan alrededor de 36 personas entre cuidadores, técnicos, supervisores y veterinarios. El animalario, además, está acreditado por AAALAC (Asociación de evaluación y acreditación del cuidado de animales de laboratorio) que establece unos estándares de calidad muy elevados que aseguren el Bienestar de los animales.

Teniendo ya una idea de nuestro animalario, podemos referir la experiencia vivida durante 2020. Es importante mencionar que la gestión de la pandemia en el animalario no fue la misma durante toda la contingencia. Por lo que dividiremos nuestro relato en dos momentos: Primera ola (marzo-mayo 2020), y segunda y tercera ola.

MARZO-MAYO 2020 (PRIMERA OLA DE LA PANDEMIA)

Tan solo dos semanas antes del día de la publicación del Real decreto 463/2020 del Estado de Alarma, fuimos conscientes de la inminente necesidad de activar un plan de emergencia. En muy poco tiempo, hubo que tener preparado un plan de contingencia que asegurase, tanto los servicios esenciales del animalario como los procedimientos en marcha hasta el momento y garantizase la vuelta a la normalidad; porque somos conscientes de que, sin la investigación con animales, enfermedades como el cáncer pueden ganar la batalla.

Hay que tener en cuenta que, tras la publicación del Real Decreto de Estado de Alarma, la actividad presencial en el centro se redujo a los servicios esenciales –principalmente animalario y mantenimiento– por lo tanto, los grupos de investigación y nuestros usuarios estuvieron realizando el trabajo de forma telemática. A la hora de poner en marcha este plan de emergencia resultó fundamental el conocimiento del agente causal y cuáles eran los hospedadores. Aunque, al principio de la pandemia se

PANORAMA

conocía poco del virus, sí se sabía que no afectaba a los roedores, en consecuencia, pudimos estar tranquilos desde este punto de vista.

En cualquier crisis hay dos pilares que hacen posible el funcionamiento de un animalario: los recursos humanos y los recursos materiales. Para poder realizar acciones rápidas y eficaces es muy importante tener formado un comité de actuación que apoye y ayude durante el tiempo que dure la emergencia.

Recursos humanos

Según Jerald Silverman en su libro "Gestión de un animalario" (*Managing the Laboratory Animal Facility*)³, los recursos humanos son el alma de un negocio. Las personas que forman el comité de actuación deben ser conscientes que es necesario proteger, en primer lugar, a las personas, y en segundo lugar a los animales. Por ello, la coordinación con la dirección del centro con el departamento de recursos humanos y con prevención de riesgos laborales, debe ser muy fluida y la toma de decisiones conjunta y vinculante.

En estos primeros momentos era fundamental llevar a cabo las siguientes medidas:

- Disminución de carga de trabajo

Era muy importante reducir el contacto de las personas y aumentar las distancias haciendo grupos más pequeños. Para lograr este fin en un animalario, es necesario reducir la carga de trabajo de las personas. Para ello, en coordinación con la Dirección del centro y el Comité Ético de Experimentación Animal (OEBA), se establecieron unas indicaciones a los grupos de investigación:

- Asegurar el genotipado de las líneas
- Cancelar el inicio de los nuevos procedimientos
- Asegurar los animales en procedimientos ya iniciados
- Cancelar todos los envíos de animales
- Asegurar el mantenimiento de las colonias

Las siguientes gráficas muestran el número de 'peticiones' de eutanasia que se recibieron en la Unidad (ver Figura 1A), y la diferencia en el número de cubetas en el mes de abril respecto a enero en los últimos tres años (ver Figura 1B).

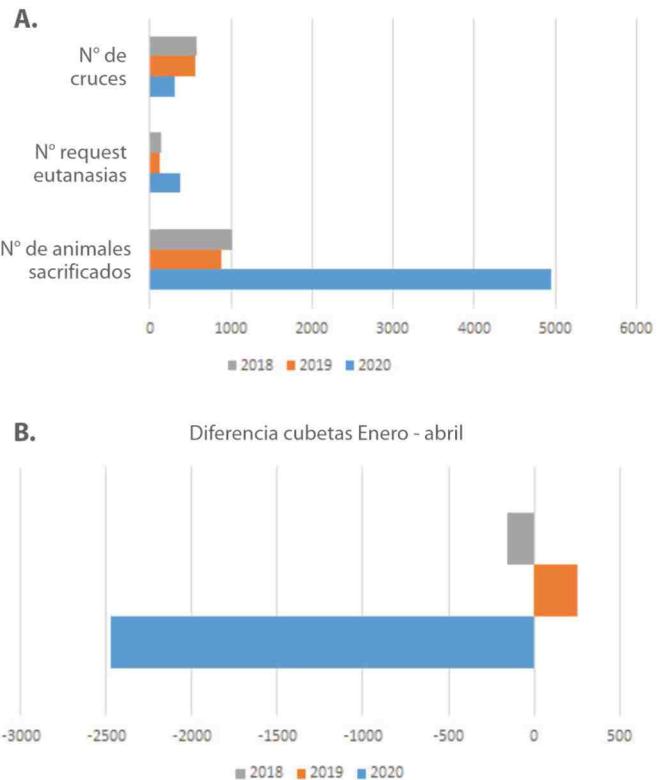


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- A. Número de 'peticiones' de eutanasia que se recibieron en la Unidad. **B.** Número de cubetas en el mes de abril respecto a enero de los últimos tres años.

Como se puede apreciar, debido al parón de los nuevos procedimientos y a priorizar el mantenimiento de los animales, se consiguió reducir el número de roedores y de cubetas en torno a un 11%. Este trabajo se hizo en tan solo una semana, gracias a la coordinación y el espléndido trabajo de todos los grupos de investigación; y por supuesto de los técnicos, cuidadores y supervisores del animalario. Un gran esfuerzo que supuso una carga emocional muy grande para todos, especialmente para los técnicos.

Además, fue fundamental posponer algunas de las actividades rutinarias no tan esenciales en un animalario, tales como cambios de cobertores y rejilla, desinfecciones de salas, controles microbiológicos, validaciones y mantenimiento de equipos, entre otras.

Esta disminución de cubetas no supuso una disminución en el contrato con la empresa externa, puesto que nuestro responsable

administrativo y coordinador del OEBA era muy consciente de la importancia de tener personas formadas y preparadas para gestionar el animalario en un momento de crisis y poder volver lo antes posible a la normalidad.

- Medidas de prevención

Con el fin de disminuir los contagios se establecieron en la semana anterior a la proclamación del Estado de Alarma las siguientes medidas:

- Jornada intensiva para evitar los contagios en la zona de comedor
- Mascarilla obligatoria en todo el animalario incluyendo zonas de descanso y área administrativa
- Baja para los mayores de 60 años
- Evitar el contacto en el centro con el personal que no fuera propio del animalario
- Organización de turnos para disminuir el contacto entre las personas

A partir del 14 de marzo se dividió al personal en grupos más pequeños que vinieron en días alternos, incluyendo los dos

veterinarios que formamos parte del equipo. Era importante que estos grupos no tuvieran interacción entre ellos para así evitar el contagio de toda la plantilla.

- Incremento de recursos humanos

En el CNIO, el servicio de animalario está externalizado a la empresa *Vivotecnia Research*, quienes incrementaron el número de personas formadas en reserva por si hubiera habido contagios masivos. Además, nos informaron de las medidas preventivas ya publicadas por el Ministerio de Sanidad. Esta información también fue enviada por la dirección del CNIO e incluía el tratamiento de los casos positivos y contactos estrechos.

- Niveles de actuación

El animalario del CNIO está acreditado por AAALAC y es fundamental realizar nuestro trabajo siguiendo unos protocolos normalizados de trabajo (PNT). Por ello, se redactó un documento que fue aprobado por el OEBA en el cual se establecieron unos niveles de actuación que dependían de los recursos humanos disponibles y la carga de trabajo en el animalario (ver Tabla 1). En cada nivel de actuación se debe definir las condiciones que justifican el nivel, las actividades que van a realizarse y las condiciones en las que van a llevarse a cabo.

Tabla 1.-Niveles de actuación en relación a los recursos humanos disponibles y a la carga de trabajo en el animalario.

NIVEL I	NIVEL II	NIVEL III	NIVEL IV	NIVEL V
	25% de reducción cubetas	50% personal	Reducción del personal 75%	Reducción mayor 75%
<ul style="list-style-type: none"> • Cancelación de envíos de animales • Jornada intensiva • Reducción del contacto con personal del centro • Mascarillas fuera de barrera • Personal mayor de 60 años en casa 	<ul style="list-style-type: none"> • Cuatro grupos - 3 días • Turnos alternos veterinarios • Rack ventilado: cambio cada 3 semanas • Fin de semana 1 persona • Cambio cada dos semanas de 1-2 animales 	<ul style="list-style-type: none"> • Sin turnos • Suplencias del personal externo • Reducción del número de animales 	<ul style="list-style-type: none"> • Solo tareas de cuidador • Solicitar ayuda investigadores 	<ul style="list-style-type: none"> • Sacrificio ordenado y humanitario de animales

PANORAMA

En el número 86 de la revista de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL) se puede consultar un artículo⁴ publicado sobre planes de contingencia, dónde está incluido el plan de contingencia del CNIO y de otros centros de investigación de nuestro país. En él se describen las pautas para establecer un plan de contingencia ante una pandemia.

Recursos materiales

- Aplicación informática de animalario

Todo animalario debe tener una buena herramienta informatizada de gestión de los animales. En el CNIO disponemos de una aplicación de gestión de colonias en la cual están registrados todos los animales dentro de un proyecto aprobado por la autoridad competente, y en el que se registran los cruces, ensayos y observaciones. Está reflejado también, la Evaluación de Bienestar de cada línea y se controla la nomenclatura de todas las modificaciones genéticas. Esta herramienta fue fundamental, ya que gracias a ella pudimos seguir trabajando con cierta normalidad y conseguimos una gran coordinación con los más de 225 usuarios de los diferentes grupos de investigación que estaban trabajando de manera telemática.

- Mascarillas y guantes

En el plan de emergencia tenemos un listado del material crítico y no crítico. En este caso, el principal problema que hubo fue la falta de distribuidores que pudieran proporcionar guantes y mascarillas. Gracias a una buena previsión en cuanto al número de mascarillas y guantes que tenemos en el animalario, no tuvimos problemas de abastecimiento; sin embargo, es importante mencionar que se incrementó significativamente el precio de ambos productos gestionados por la empresa externa.

En el animalario solo fue necesario activar el nivel II, ya que al no haber bajas de personal no fue necesario avanzar en el nivel de emergencia.

Tabla 2.- Incidencias en los recursos humanos de 21 centros analizados de toda España.

Nº de centros	Nº empleados	Edad media	Bajas IT Covid	Positivos Covid	Con síntomas	Brotes
10	104	37	23	10	8	0
11	106	30	34	7	1	0
21	210	33,7	57	17	9	0
		Porcentaje	27%	8%	4%	0%

JUNIO 2020-FEBRERO 2021 (SEGUNDA Y TERCERA OLA)

Si la frase que define mejor la primera ola fue “la realidad supera a la ficción”, la frase que mejor retrata a la segunda y tercera ola sería “no hay que temer nada en la vida, solo hay que entenderlo. Ahora es el momento de entender más, para que podamos temer menos”(Marie Curie).

Al finalizar la primera ola, los investigadores fueron volviendo a la normalidad con las lógicas restricciones marcadas por la Dirección del centro de distancia y mascarilla obligatoria, que nos han llevado a esta nueva normalidad y permitiendo recuperar los números y la producción del animalario que teníamos anteriormente. En estos momentos se sigue manteniendo la jornada intensiva, pero el funcionamiento del animalario es totalmente normal y habiendo restablecido todas las actividades rutinarias propias de un animalario.

La única diferencia importante y reseñable es que, actualmente, tenemos entre nuestros “huéspedes” dos modelos de COVID-19 desarrollados por la Dra. Sagrario Ortega. A ambos los cuidamos y protegemos como al resto de nuestros animales, con especial conocimiento por parte de cuidadores y técnicos de la susceptibilidad propia de la línea, para seguridad del animal y la persona durante el manejo.

INCIDENCIAS EN RECURSOS HUMANOS

Se han analizado un total de 21 centros de toda España gracias a los datos aportados por las empresas *Charles River* y *Vivotecnia Research* (ver Tabla 2). De todos los centros analizados con un total de 210 empleados y una edad media de 33,7 años, hemos podido comprobar que tan solo un 8% fueron positivos a COVID-19 de los cuales solo un 4% mostraron síntomas; y lo más importante, no se ha reportado la existencia de ningún brote. Hay que señalar que la mayoría de las bajas del personal no fueron por ser positivos a COVID-19, sino por contacto estrecho con personas positivas o con síntomas.

Las razones de los resultados tan buenos son muy diversas: instalaciones con buenas renovaciones de aire, personal entrenado para uso de EPIs, edad del personal y, por supuesto, una buena gestión.

COMITÉS ÉTICOS

Respecto a la evaluación ética de los proyectos, se han analizado los datos que ha proporcionado el Comité de Ética de la Investigación y de Bienestar Animal (CElyBA) del Carlos III, en relación a los proyectos en los cuales se trabaja con animales de acuerdo al RD 53/2013, y se puede decir que en 2020 se han recibido más proyectos que en 2019 y las fechas de evaluación se han acortado respecto a los tiempos de 2019 (ver Figura 2).

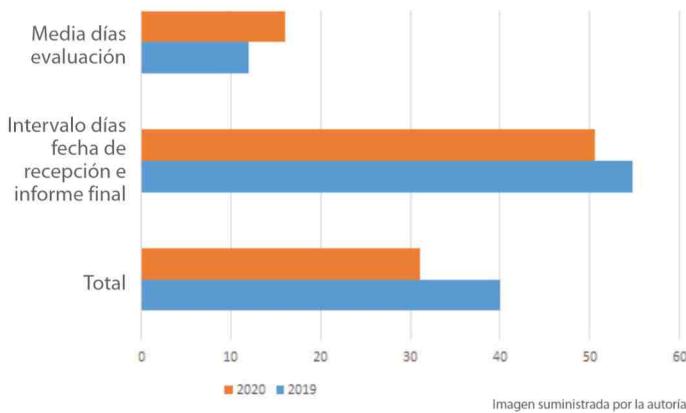


Figura 2.- Número de proyectos recibidos y evaluados por el CElyBA del Carlos III en 2019 y 2020.

CONCLUSIONES

Hasta la fecha, esta ha sido en España la mayor prueba de estrés a la que se han visto sometidos el conjunto de animalarios.

Es importante estar preparados para todas las emergencias que seguro vendrán. Para ello, necesitamos crear comités de coordinación de emergencias en los que estén incluidos tanto la dirección de los centros, el personal de departamento de prevención y riesgos laborales, representantes de los investigadores, así como los responsables directos de las actividades esenciales que pueden verse afectadas.

Pero, por favor, lo más imprescindible, no podemos dudar. Hay que tener en cuenta que el nivel V del plan de contingencia (en el cual se debe eutanasiar toda la colonia) debe ser una posibilidad real, sin trabas, porque el siguiente agente puede ser letal y el personal que trabaja –sea interno o externo del centro– debe ser considerado prioritario en cualquier plan de contingencia.

Por último, quiero agradecer sobre todo el trabajo de los técnicos y cuidadores, que no dudaron en trasladarse al centro de trabajo cuando las calles estaban vacías y el número de muertos se incrementaba, ofreciéndose a venir más horas; incluso en fin de semana si era necesario. No podría haber tenido mejor equipo, estoy realmente orgullosa de cada uno de ellos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Grima D. 'It's heartbreaking' Labs are euthanizing thousands of mice in response to coronavirus pandemic. *Science*. 2020;23.
2. Nowogrodzki A. Cull, release or bring them home: *Coronavirus crisis forces hard decisions for labs with animals*. *Nature*. 2020;580:19.
3. Jerald Silverman. *Managing the Laboratory Animal Facility*. 3rd Edition. CRC Press/Taylor & Francis. 2016.
4. Altafaj A. and Blanco I. *Plan de contingencia ante una pandemia en animalarios de especies habituales*. Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio. 2020;86.

PARA SABER MÁS

- Roble G.S., Lingehol N.M., Baker B., et al. *A Comprehensive Laboratory Animal Facility Pandemic Response Plan*. *JAALAS*. 2010;49(5):623-32.

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.MATACHANACOM

Herramientas para el análisis de edición mediada por nucleasas

Matías Morín y Miguel Ángel Moreno-Pelayo

Servicio de Genética, Hospital Ramón y Cajal. Instituto Ramón y Cajal de investigaciones Sanitarias (IRYCIS)
Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Raras (CIBERER)

Palabras clave: secuenciación, genotipado, NGS.

RESUMEN

Durante los últimos años se han desarrollado enormemente las herramientas de edición de genomas basadas en nucleasas. Éstas permiten, entre otras muchas aplicaciones, la generación de modelos animales y celulares para diferentes patologías con una gran rapidez y facilidad. No obstante, la edición de embriones tiene como resultado la generación de individuos multialélicos cuyo análisis no resulta sencillo. En este artículo se resumen algunas de las técnicas más frecuentemente empleadas llevando a cabo una comparación de las mismas; prestando especial atención a aquellas basadas en secuenciación masiva, conocida también como secuenciación de segunda generación (NGS, del inglés *Next Generation Sequencing*).

INTRODUCCIÓN

Las tecnologías para la edición precisa de genomas tales como las nucleasas de dedos de zinc (ZFN, del inglés *Zinc Finger Nucleases*), las nucleasas efectoras similares a activadores de la transcripción (TALEN, del inglés *Transcription Activator-Like Effector Nucleases*), las meganucleasas, o el sistema de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas (CRISPR-Cas9¹, del inglés *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) han dado lugar a nuevas y emocionantes oportunidades para que los científicos comprendan mejor numerosos procesos biológicos. Estas nucleasas permiten modificaciones específicas en el genoma, que pueden ayudar al estudio de los mecanismos biológicos implicados en el desarrollo de enfermedades, al descubrimiento de fármacos, al desarrollo de la medicina personalizada, a la mejora de la productividad agrícola, e incluso a la sostenibilidad medioambiental^{2,3}.

Possiblemente, la herramienta más popular sea CRISPR-Cas9. Su popularidad se puede atribuir a su sencillo diseño, ya que solo es necesario un ARN guía (sgRNA) que dirige la actividad de la

endonucleasa mediada por Cas9. Esto evita el proceso de clonación de múltiples pasos requerido para el ensamblaje de los dominios de unión al ADN basados en proteínas ZFN y TALEN. Además, a diferencia de las nucleasas Cas9, el dominio de nucleasa FokI de ZFN y TALEN funciona como un dímero, lo que requiere el diseño de dos proteínas con estrictas restricciones de orientación y espaciado. Por otro lado, existen numerosas herramientas bioinformáticas que ayudan en el diseño de los experimentos empleando CRISPR⁴.

La unión de Cas9 depende de la PAM (*Protospacer Adjacent Motif*) y, tras el apareamiento de bases complementarias del sgRNA con el ADN diana, Cas9 produce una rotura dirigida en la doble hebra del ADN⁵. Esta rotura es reparada, posteriormente, por la maquinaria de reparación celular endógena y puede conducir a eventos de inserción y/o delección (indels) a través de la vía de unión de extremos no homólogos (NHEJ, del inglés *NonHomologous End Joining*) o a una reparación precisa dirigida por homología cuando se le proporciona un ADN donante (HDR, del inglés *Homology Directed Repair*) (ver Figura 1).

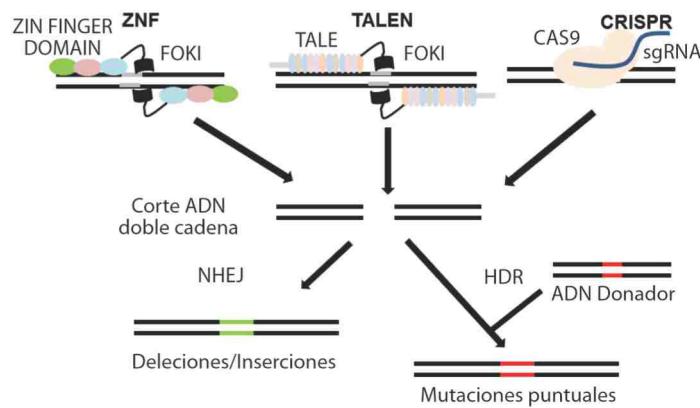


Figura 1.- Esquema del modo de actuación de las nucleasas ZNF, TALEN y CRISPR-Cas9.

REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

Una restricción del uso de la nucleasa Cas9 de *Streptococcus pyogenes*, que es la más empleada, es que precisa de un motivo adyacente al protoespaciador (PAM) 5'-NGG-3'. Sin embargo, este prerequisito puede subsanarse mediante el empleo de ortólogos de Cas9 con diferentes especificidades de secuencia PAM^{6,7}. Otra desventaja del uso de esta herramienta es la generación de eventos *off target*, es decir, la edición de zonas del genoma distintas de la región diana. No obstante, diversos estudios ponen de manifiesto que estos acontecimientos son menos frecuentes de lo que se había propuesto inicialmente^{8,9}. Así, la principal dificultad de la edición mediada por CRISPR-Cas9 radica en el análisis de los eventos *on target*, entendiendo como tales las modificaciones generadas en la región de interés.

La tecnología CRISPR empleada en embriones en etapas de desarrollo muy tempranas (una célula o unas pocas células) genera individuos mosaicos, es decir, con una alta diversidad de alelos. Esto es debido a que la Cas9 está activa durante un periodo de tiempo, durante el cual los blastómeros se están dividiendo activamente y estas nuevas células van a ser editadas también. El genotipado de los individuos mosaico es muy complicado ya que pueden contener varios alelos mutantes con diferentes frecuencias y cada mutación puede estar en estado homo- o heterocigoto. Por tanto, para evaluar la eficacia y la especificidad de la edición del genoma se requieren técnicas potentes para la detección de mutaciones que permitan un análisis a gran escala. Además, dichas técnicas han de ser reproducibles, fiables, económicas, y deberían ofrecer resultados para todo tipo de mutaciones conocidas (mutaciones puntuales, delecciones e inserciones).

Hoy en día, se han desarrollado varias técnicas que permiten cuantificar la tasa de mutación después de la administración de nucleasas. En este manuscrito se describen y se comparan algunas de ellas, prestando especial atención al empleo de secuenciación masiva (NGS) que es una de las herramientas más empleadas y, sin lugar a duda, la que presenta una mayor sensibilidad y especificidad.

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE LA EDICIÓN MEDIADA POR NUCLEASAS

En los diferentes métodos descritos, a continuación, el primer paso siempre es la amplificación de la región de interés.

Ensayo de escisión de discordancia de endonucleasa T7E1 (T7E1)

Este método se basa en la capacidad de la endonucleasa T7E1 para discriminar entre homodúplex y heterodúplex de ADN de cadena doble. Los sustratos de T7E1 son ADNs de doble¹⁰ cadena distorsionados que experimentan cambios conformacionales¹¹. Típicamente, el homodúplex de ADN, que está perfectamente apareado, no constituirá un buen sustrato para la T7E1. Por el contrario, el heterodúplex de ADN de doble cadena, que contiene bucles extra-helicoidales e incluso desapareamientos de una sola base, puede adoptar tales estructuras polimórficas¹². Sin embargo, la secuencia, el número de nucleótidos mal apareados, y la secuencia flanqueante entre las dos cadenas de ADN afectan la estructura del heterodúplex y, por lo tanto, afectarán a la eficacia de escisión por T7E1. Esta es la razón por la que este método es capaz de diferenciar mejor las delecciones que las mutaciones de una sola base¹⁰. Algunos estudios indican que con este método se pueden detectar *indels* que presenten una frecuencia mayor o igual al 5%¹³. En todo caso se trata de un método semicuantitativo.

Una modificación de este ensayo se basa en la utilización de las endonucleasas CEL y ENDO, específicas de una sola hebra, de la familia de nucleasas S1 de plantas¹⁴⁻¹⁶. CELI, CELII (comercializadas bajo la marca Surveyor) y ENDO1 son nucleasas monocatenarias activas contra ADN o ARN. La desventaja es que estas nucleasas presentan también actividad exonucleasa¹⁵⁻¹⁷. Además, este método presenta una menor sensibilidad que el basado en T7E1 (10% de Surveyor frente al 5% de T7E1)¹².

Seguimiento de *Indels* por descomposición (TIDE, del inglés *Tracking of Indels by Decomposition*)

Este método consiste en un algoritmo de seguimiento de delecciones y/o inserciones por descomposición (TIDE) que analiza los electroferogramas generados mediante secuenciación Sanger¹⁸. Se basa en la comparación de los electroferogramas de una muestra editada y una sin editar. Gracias a esta comparación, efectúa una separación de cada una de las posibles secuencias presentes en el electroferograma de la muestra editada a partir del punto donde se empiezan a detectar picos múltiples. Actualmente existen diversas herramientas online gratuitas que permiten este tipo de análisis, por ejemplo: <http://yosttools.genetics.utah.edu/PolyPeakParser/> o <https://tide.nki.nl/>.

REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

ANIMALES DE LABORATORIO

PRIMAVERA 2021 / NÚMERO 89

Detección de delecciones y/o inserciones mediante un análisis de amplificados (IDAA, del inglés *Indel Detection by Amplicon Analysis*)

El ensayo de IDAA consiste en una PCR empleando tres cebadores. Se emplea una pareja de cebadores específicos de la región de interés, aunque al oligonucleótido *forward* se le añade una secuencia en su extremo 5' complementaria de un tercer cebador que está marcado con 6-FAM. Con ello se consigue etiquetar los amplificados de PCR obtenidos a partir de ADN genómico editado. A continuación, los amplicones marcados se someten a electroforesis capilar, lo que permite separar los productos en función de su tamaño y, además, obtener la intensidad de la fluorescencia que es proporcional a la frecuencia con la que estaba presente cada producto en la muestra (ver Figura 2). Este método permite la detección de *indels* de forma rápida, sensible, y simple con una precisión de hasta ± 1 bp¹⁹.

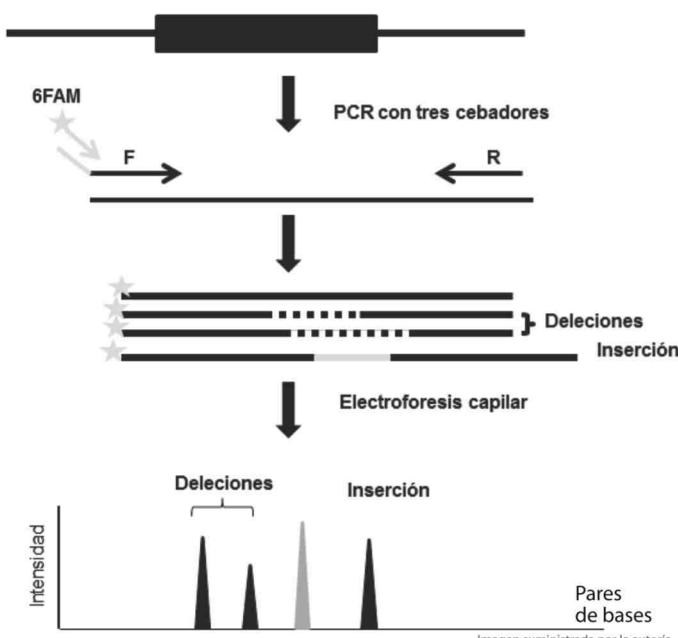


Figura 2.- Descripción esquemática de la técnica IDAA.

Imagen suministrada por la autoría

Secuenciación de segunda generación (NGS)

Durante los últimos años, se han desarrollado diversas técnicas de secuenciación masiva paralela del ADN, conocida también como secuenciación de segunda generación (NGS). Estas técnicas permiten obtener millones de lecturas de una región determinada de un genoma o de todo el genoma según el

abordaje deseado. El perfeccionamiento de las tecnologías, la estandarización de las técnicas, y la reducción progresiva de los costes han hecho que sean utilizadas cada vez con mayor frecuencia en una gran variedad de campos, desde la identificación de variantes patogénicas en pacientes con enfermedades de base genética, hasta la identificación de microorganismos o definición de patrones de expresión de genes en una muestra determinada.

El primer paso de la secuenciación NGS es la generación de librerías de ADN. Básicamente, podemos definir dos abordajes: generación de librerías mediante captura o mediante amplificación. En el primer caso, se diseñan sondas de las regiones que se quieren secuenciar, sondas que están unidas a biotina. Se hibridan con el ADN que previamente ha sido fragmentado por diversos métodos (enzimáticos o mecánicos), y se capturan las regiones que han hibridado con las sondas empleando bolas magnéticas unidas a estreptavidina. Se lleva a cabo un enriquecimiento de la librería mediante PCR y se procede a la secuenciación. Durante este último proceso de enriquecimiento se añade a cada muestra unas secuencias, generalmente, de 8 bases, denominadas *index* o identificadores que van a ser distintas para cada muestra. Esto permite la secuenciación de numerosas muestras en una misma carrera reduciendo así el coste de la secuenciación.

Los métodos basados en amplificación consisten en el diseño de cebadores que van a permitir amplificar las regiones de interés, el indexado de las muestras, y la posterior secuenciación. Precisamente, este último abordaje es el empleado para analizar las muestras editadas mediante el uso de nucleasas²⁰.

En una primera etapa se realiza una PCR empleando cebadores específicos de la región de interés. Estos cebadores pueden ser, perfectamente, complementarios a la secuencia de interés o bien tener en sus extremos unas colas con una secuencia que va a permitir, posteriormente, la secuenciación. En el primer caso, se procede a la purificación de los productos obtenidos y, posteriormente, su ligación a unos fragmentos de ADN que contienen los identificadores y las secuencias necesarias para que se lleve a cabo la secuenciación, denominados adaptadores. En el segundo caso, se procede a la adición de los identificadores mediante PCR. En todo caso, el resultado es una librería de ADN indexada que ya puede ser secuenciada. Es muy recomendable utilizar un sistema que permita la secuenciación de las dos hebras

REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

del ADN, es lo que se denomina secuenciación *pair end*. Además, el tamaño del amplificado ha de ser acorde al tipo de secuenciación que se lleve a cabo. Por ejemplo, si se va a secuenciar 2x250, es decir una secuenciación de las dos cadenas y 250 pb de cada una, el amplificado ha de ser menor de 250 pb, garantizándose, así, una lectura completa de las dos cadenas.

Como resultado de la secuenciación se obtienen unos ficheros que contienen el conjunto de lecturas (*reads*, en inglés) de cada muestra, son los ficheros FastQ. Estas lecturas pueden ser alineadas frente a la región de interés obteniéndose los ficheros de

alineamiento o ficheros Bam, que pueden ser visualizados empleando diversos softwares, siendo el más empleado IGV (*Integrative Genomics Viewer, Broad Institute*)²¹. Existen diversas herramientas gratuitas que permiten realizar el alineamiento y generar ficheros Bam por ejemplo <https://usegalaxy.org/>. Por otro lado, algunos secuenciadores tienen ya instalados algunas de ellas.

Para llevar a cabo la identificación y cuantificación de cada una de las variantes presentes en cada muestra existen diversas herramientas bioinformáticas²²⁻²⁹ (ver Tabla 1).

Tabla 1.-Herramientas bioinformáticas disponibles para el análisis mediada por CRISPR.

Herramienta	Web site	GitHub repository	Referencia
Cas-Analyzer	http://www.rgenome.net/cas-analyzer/	http://github.com/snugel/cas-analyzer	22
CRISPR-GA	http://crispr-ga.net/	http://github.com/davidliwei/awesome-CRISPR	23
CRISPResso2	http://crispresso.pinellolab.partners.org/submission	http://github.com/pinellolab/CRISPResso2	24
CRISPRAnalyzerR	http://crispr-analyzer.dkfz.de/	http://github.com/boutroslab/caRpools	25
CRISP-DAV	NO	http://github.com/pinetree1/crispr-dav.git	26
CRIS.py	NO	http://github.com/patrickc01/CRIS.py	27
CRISPRMatch	NO	http://github.com/zhangtaolab/CRISPRMatch	28
ampliCan	NO	http://github.com/valenlab/amplican	29

Algunas de estas herramientas están disponibles vía web, mientras que otras se pueden descargar e instalar en los ordenadores de los usuarios, aunque sólo funcionan en un entorno de Linux. El punto de partida del análisis son los ficheros FastQ y en muchos casos además se necesitan las secuencias de la guía, de la región de interés, y la secuencia editada que se espera.

Como resultado, se muestra el porcentaje de eventos obtenidos por NHEJ y aquellos obtenidos por HDR, así como la posición donde se localizan las variantes (*indels* o mutaciones puntuales) y la frecuencia en cada muestra (ver Figura 3). Si bien,

estas herramientas centran su análisis en la región cercana a la PAM, ignorando en muchos casos las posibles variaciones generadas mediante el proceso de edición en otras zonas de la región de interés. Con el fin de subsanar esta deficiencia, nuestro equipo ha diseñado una herramienta denominada Mosaic Finder que permite no solo un análisis cuantitativo preciso (número de clases alélicas generadas) sino también la descripción en cada una de ellas de la/s variante/s presente/s en la región de interés y la visualización de donde se encuentran localizadas las mismas (ver Figura 4) (dato no publicado).

REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

ANIMALES DE LABORATORIO
PRIMAVERA 2021 / NÚMERO 89

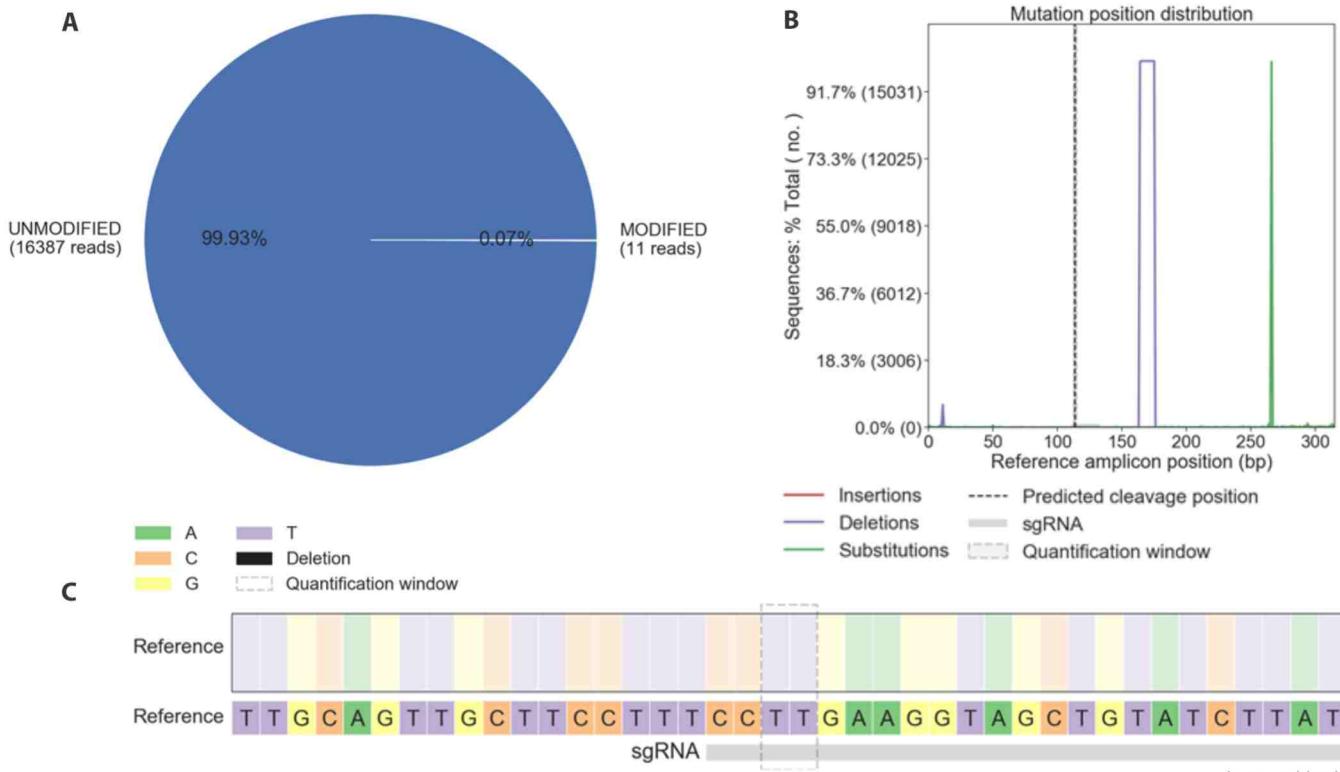


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Análisis de muestras editadas con nucleasas llevado a cabo con la herramienta bioinformática CRISPResso. **A.** Cuantificación de la frecuencia de edición determinada por el porcentaje y número de lecturas de secuencia que muestran alelos modificados y sin modificar. **B.** Distribución de las diferentes variantes y frecuencia. **C.** Frecuencia de cambio en las diferentes bases próximas a la guía.

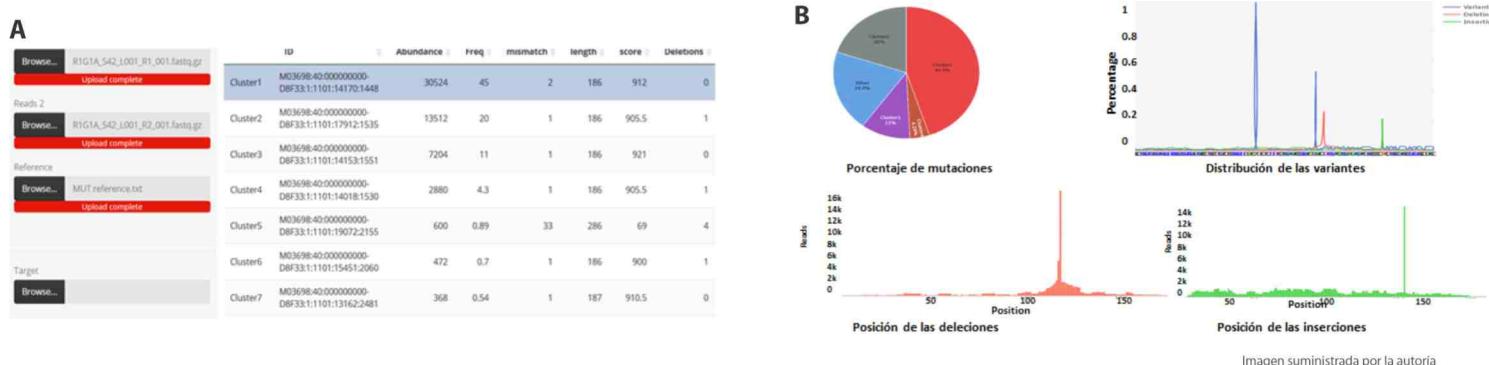


Figura 4.- Vista general de la herramienta Mosaic Finder. **A.** A partir de los ficheros FastQ realiza una clasificación y agrupamiento de las lecturas (arriba a la izquierda). Seleccionando cada grupo de lecturas muestra el alineamiento con la secuencia de referencia o con la secuencia editada esperada (abajo a la izquierda) **B.** Gráficos generados con Mosaic Finder.

REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

COMPARACIÓN DE LAS DIFERENTES TÉCNICAS

El ensayo T7E1 es el menos cuantitativo, además su sensibilidad se ve muy reducida cuando se analizan muestras con una amplia gama de tamaños de *indels*¹³. Las técnicas TIDE e IDAA parecen mostrar resultados similares a los de NGS en cuanto a la identificación de los *indels*. Sin embargo, presentan una menor capacidad para la cuantificación de los alelos presentes en las muestras. El rango de detección de la técnica TIDE es de -10 pb a +10 pb. Si se amplía el rango de análisis disminuye mucho el nivel de confianza de los resultados¹⁸ y su sensibilidad está aproximadamente entorno al 1-2%.

La mayor precisión de la técnica de IDAA es obtenida al analizar *indels* de -5bp a +5 bp¹⁹. Por otro lado, con los programas de análisis disponibles, actualmente, IDAA requiere muchas veces un tratamiento manual de los picos de las muestras control y editada lo que puede alterar su precisión.

CONCLUSIONES

Los métodos anteriormente descritos, a excepción de la NGS, solo permiten determinar la presencia de *indels* y al final siempre requieren clonar y secuenciar los productos de los amplificados con el fin de conocer con exactitud cuál es la variante generada por la edición. Con ello, la herramienta de elección para el análisis de edición debería ser NGS. Pero también presenta limitaciones como, por ejemplo, que no puede detectar translocaciones o grandes delecciones que eliminan uno o ambos sitios de unión de los cebadores. Además, como está basado en PCR puede tener un sesgo para los amplicones más pequeños, esto puede subsanarse reduciendo al máximo el número de ciclos de la PCR.

No obstante, cuando solo se quiere conocer si ha habido corte por parte de la nucleasa y si se han generado *indels*, pueden emplearse las otras técnicas descritas anteriormente. Hay que tener en cuenta que cada una de ellas presenta ventajas y desventajas.

FINANCIACIÓN

Esta investigación ha sido financiada por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo dentro del "Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2017-2020" (PI14-948, PI17-1659 y FIS (PI20/0429) de MAMP), el Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Raras (CIBERER, 06/07/0036 de MAMP),

Comunidad de Madrid (CAM, B2017/ BMD3721 de MAMP), plataforma de innovación (PT20/00042) y el Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Raras (Acciones Cooperativas y Complementarias Intramurales ACCI18-20 (ER19P5AC728) de MM).

BIBLIOGRAFÍA

1. Fernández A., Josa S., and Montoliu L. *A history of genome editing in mammals*. *Mamm Genome*. 2017;28(7-8):237-46.
2. Barrangou R. and Doudna J.A. *Applications of CRISPR technologies in research and beyond*. *Nat Biotechnol*. 2016;34(9):933-41.
3. Tyagi S., Kumar R., Das A., et al. *CRISPR-Cas9 system: A genome-editing tool with endless possibilities*. *J Biotechnol*. 2020;319:36-53.
4. Torres-Perez R., Garcia-Martin JA., Montoliu L., et al. *WeReview: CRISPR Tools-Live Repository of Computational Tools for Assisting CRISPR/Cas Experiments*. *Bioengineering (Basel)*. 2019;6(3):63.
5. Anders C., Niewohner O., Duerst A., et al. *Structural basis of PAM-dependent target DNA recognition by the Cas9 endonuclease*. *Nature*. 2014;513(7519):569-73.
6. Kleinstiver B.P., Prew M.S., Tsai S.Q., et al. *Broadening the targeting range of *Staphylococcus aureus* CRISPR-Cas9 by modifying PAM recognition*. *Nat Biotechnol*. 2015;33(12):1293-8.
7. Ran F.A., Cong L., Yan W.X., et al. *In vivo genome editing using *Staphylococcus aureus* Cas9*. *Nature*. 2015;520(7546):186-91.
8. Montoliu L. and Whitelaw C.B.A. *Unexpected mutations were expected and unrelated to CRISPR-Cas9 activity*. *Transgenic Res*. 2018;27(4):315-9.
9. Iyer V., Boroviak K., Thomas M., et al. *No unexpected CRISPR-Cas9 off-target activity revealed by trio sequencing of gene-edited mice*. *PLoS Genet*. 2018;14(7):e1007503.
10. Mashal R.D., Koontz J., and Sklar J. *Detection of mutations by cleavage of DNA heteroduplexes with bacteriophage resolvases*. *Nat Genet*. 1995;9(2):177-83.
11. Déclais A.C. and Lilley D.M. *New insight into the recognition of branched DNA structure by junction-resolving enzymes*. *Curr Opin Struct Biol*. 2008;18(1):86-95.
12. Vouillot L., Thélie A., and Pollet N. *Comparison of T7E1 and surveyor mismatch cleavage assays to detect mutations triggered by engineered nucleases*. *G3 (Bethesda)*. 2015;5(3):407-15.
13. Sentmanat M.F., Peters S.T., Florian C.P., et al. *A Survey of Validation Strategies for CRISPR-Cas9 Editing*. *Sci Rep*. 2018;8(1):888.
14. Oleykowski C.A., Bronson Mullins C.R., Godwin A.K., et al. *Mutation detection using a novel plant endonuclease*. *Nucleic Acids Res*. 1998;26(20):4597-602.

REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

ANIMALES DE LABORATORIO

PRIMAVERA 2021 / NÚMERO 89

15. Qiu P, Shandilya H., D'Alessio J.M., et al. *Mutation detection using Surveyor nuclease*. Biotechniques. 2004;36(4):702-7.
16. Triques K., Piednoir E., Dalmais M., et al. *Mutation detection using ENDO1: application to disease diagnostics in humans and TILLING and Eco-TILLING in plants*. BMC Mol Biol. 2008;9:42.
17. Till B.J., Burtner C., Comai L., et al. *Mismatch cleavage by single-strand specific nucleases*. Nucleic Acids Res. 2004;32(8):2632-41.
18. Brinkman E.K., Chen T., Amendola M., et al. *Easy quantitative assessment of genome editing by sequence trace decomposition*. Nucleic Acids Res. 2014;42(22):e168.
19. Yang Z., Steentoft C., Hauge C., et al. *Fast and sensitive detection of indels induced by precise gene targeting*. Nucleic Acids Res. 2015;43(9):e59.
20. Fernández A., Morín M., Muñoz-Santos D., et al. *Simple Protocol for Generating and Genotyping Genome-Edited Mice With CRISPR-Cas9 Reagents*. Curr Protoc Mouse Biol. 2020;10(1):e69.
21. Robinson J.T., Thorvaldsdóttir H., Winckler W., et al. *Integrative genomics viewer*. Nat Biotechnol. 2011;29(1):24-6.
22. Park J., Lim K., Kim J.S., et al. *Cas-analyzer: an online tool for assessing genome editing results using NGS data*. Bioinformatics. 2017;33(2):286-8.
23. Güell M., Yang L., and Church G.M. *Genome editing assessment using CRISPR Genome Analyzer (CRISPR-GA)*. Bioinformatics. 2014;30(20):2968-70.
24. Clement K., Rees H., Canver M.C., et al. *CRISPResso2 provides accurate and rapid genome editing sequence analysis*. Nat Biotechnol. 2019;37(3):224-6.
25. Winter J., Breinig M., Heigwer F., et al. *caRpools: an R package for exploratory data analysis and documentation of pooled CRISPR/Cas9 screens*. Bioinformatics. 2016;32(4):632-4.
26. Wang X., Tilford C., Neuhaus I., et al. *CRISPR-DAV: CRISPR NGS data analysis and visualization pipeline*. Bioinformatics. 2017;33(23):3811-2.
27. Connelly J.P. and Pruitt-Miller S.M. *CRISPy: A Versatile and High-throughput Analysis Program for CRISPR-based Genome Editing*. Sci Rep. 2019;9(1):4194.
28. You Q., Zhong Z., Ren Q., et al. *CRISPRMatch: An Automatic Calculation and Visualization Tool for High-throughput CRISPR Genome-editing Data Analysis*. Int J Biol Sci. 2018;14(8):858-62.
29. Labun K., Guo X., Chavez A., et al. *Accurate analysis of genuine CRISPR editing events with ampliCan*. Genome Res. 2019;29(5):843-7.



**Todo lo que
necesitas saber**

Anúnciate en **ANIMALES DE LABORATORIO**,
la revista de habla hispana más importante del sector,
y posiciona tus productos directamente
en manos de los animalarios.

SECAL
sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

www.secal.es

Low-flow electronic vaporizers

SomnoFlo®

Like traditional, but better



Features & Benefits of Low-Flow

- Low flow rates
Saves money by using less than 1 mL/hr of isoflurane
- Built-in air compressor
Uses room air or compressed gas
- Automated anesthetic delivery system
Ensures precision to 0.1% delivery of anesthetic
- No servicing or calibration needed
Cost-effective, reliable equipment
- Induction chamber purge
Minimizes WAG exposure



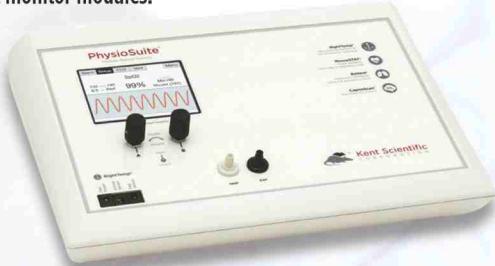
SomnoSuite®

All-in-one system, ideal where space is limited

Physiological monitoring

PhysioSuite®

Multi-physiological monitor with far infrared warming and temperature control, and optional pulse oximeter and heart rate monitor, ventilator and end-tidal CO₂ monitor modules.



Features & Benefits

- Intuitive touch screen control
Easy to use
- Pulse oximetry and heart rate module
Accurately measure heart rates up to 900 bpm
- Temperature monitor and homeothermic control module
Safely warm the animal without overheating
- Automated ventilator module
Ventilate animals from 3g to 1,250g
- End-tidal CO₂ and respiratory rate module
Delivers clear, accurate capnogram

Noninvasive blood pressure monitors

CODA®

CODA Monitor - 1 Animal



High throughput system Systems for 2, 4, 6 or 8 animals.
(network up to 48 animals)

- Measure both awake and anesthetized animals
- 8 gram mice to 950 gram rats
- Systolic, diastolic, mean BP and heart rate
- Diastolic BP measured, not calculated
- Easily measure dark-skinned, C57/BL6 mice
- MRI compatible

For more information, visit sodispan.com
Sodispan Research s.l. exclusive representative in Spain and Portugal



Kent Scientific
CORPORATION

Agrupación de ratones macho adolescentes como estrategia para no alojar ratones recién destetados solos

Roger Grífols¹, Carolina Zamora¹, Iván Ortega-Saez² y Garikoitz Azkona Mendoza³

¹Charles River Laboratories

²Universitat de Barcelona (UB)

³Departamento de Procesos Psicológicos Básicos y su Desarrollo, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU)

Palabras clave: agrupación, adolescente, agresividad.

INTRODUCCIÓN

El ratón (*Mus musculus*) es una especie sociable y jerárquica que en la naturaleza forma territorios habitados por una pequeña población integrada por un macho dominante, varias hembras, sus crías lactantes y ratones adolescentes. El tamaño del territorio depende de la disponibilidad de alimentos y la densidad de la población. Los machos, alcanzada la edad adulta, pueden permanecer en el territorio parental o dispersarse, dependiendo de la densidad de la población y la agresividad de cada individuo¹. El macho alfa suele presentar agresividad por dominancia frente a machos subordinados del mismo núcleo social y agresividad territorial frente a machos intrusivos^{2,3}.

En el laboratorio, los ratones han sido criados, y en muchos casos endocriados (consanguíneos), con estímulos pobres y en ambientes restrictivos⁴. La domesticación y la selección artificial han alterado ciertos patrones de comportamiento, como los comportamientos defensivos⁵, mientras que otros permanecen intactos, como la construcción de nidos⁶ o el aseo⁷.

Los ratones de laboratorio suelen ser destetados, aproximadamente, a los 21 días tras su nacimiento y separados de sus madres para formar grupos de 2 a 5 miembros del mismo sexo y cepa, lo que favorece las relaciones de afiliación entre individuos del mismo grupo⁸. Mantener a los ratones en grupo es importante, ya que el aislamiento social tras el destete produce alteraciones neuroquímicas⁸⁻¹⁰ y de conectividad cerebral¹¹ que inducen alteraciones conductuales en la edad adulta⁸. De hecho, mediante el aislamiento social durante el desarrollo juvenil se han generado modelos murinos para el estudio de fenotipos tipo depresivos y de ansiedad¹²⁻¹⁴, y de déficits en la interacción social y funciones cognitivas^{10,13}.

Como se ha mencionado anteriormente, los ratones de laboratorio se destetan en grupos de 2 a 5 miembros del mismo sexo. Sin embargo, en ocasiones podemos encontrar camadas con un solo macho o hembra. En el caso de las hembras, no hay mayor problema, ya que la hembra recién destetada se puede agrupar con hembras mayores de la misma cepa. El grupo de hembras le suele dar la bienvenida sin mayor problema, ya que las hembras de ratón mantienen relaciones de afiliación entre compañeras, construyendo nidos y compartiendo la cría en parejas o grupos a lo largo de su vida¹⁵. En el caso de los machos, la edad es un factor importante a tener en cuenta. La aparición de conductas agresivas durante la adolescencia (ver Figura 1) es esencial para el desarrollo adecuado de las conductas sociales en la fase adulta¹⁶. En la etapa juvenil, que va del día 21 tras el nacimiento al día 34, los roedores establecen relaciones entre hermanos que, probablemente, promueven la flexibilidad conductual posterior facilitando la integridad de los circuitos neuronales^{17,18}. En la pubertad, entre los 35 y los 54 días de vida, se desarrollan las diferencias sexuales, incluidos los mecanismos fisiológicos y las características de la conducta adulta¹⁹. En este momento comienzan a mostrar comportamiento territorial acompañado de relaciones de dominancia-subordinación, incluso entre hermanos de la misma camada²⁰.

Adolescencia				
21 días	28 días	34 días	42 días	54 días
Juvenil temprano	Juvenil tardío	Púber temprano	Púber tardío	

Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Las diferentes etapas por días de la adolescencia en roedores⁸.

BIENESTAR ANIMAL

Además de la edad, otros factores que pueden condicionar la aceptación de un macho recién destetado en un grupo de ratones adolescentes ya formado son el número de machos, la limpieza o la cepa. En este artículo, describiremos los resultados de los estudios realizados en ratones C57BL/6J, Crl:CD1(ICR) (CD1), y CB17.Cg-Prkdc^{scid}/Lyst^{bg-J}/Crl (SCID Beige)^{21,22} con el fin de determinar si los machos recién destetados de estas cepas se pueden agrupar de forma segura con ratones juveniles (etapa temprana o tardía) o púberes (etapa temprana o tardía) de la misma cepa, y si la limpieza de la jaula o el número de miembros del grupo de acogida influyen en ello.

CEPA DE LOS RATONES

Nuestros resultados^{21,22} indicaron que los machos C57BL/6J, CD1 y SCID Beige, juveniles (etapa temprana y tardía) mostraron bajos niveles de agresividad hacia el ratón recién destetado. Por lo que es seguro reagrupar machos solitarios recién destetados con ratones de hasta 34 días de otra camada (ver Figura 2A). Sin embargo, los machos C57BL/6J púberes (35 a 54 días de edad) mostraron mucha más agresividad hacia los ratones recién destetados. De hecho, el 26,67% de los ratones C57BL/6J recién destetados fueron encontrados muertos y el 50% tuvieron que ser alojados individualmente la mañana siguiente de ser agrupados con ratones machos púberes. Si bien, los machos adultos C57BL/6J se consideran una cepa de ratón poco agresiva²³, estos están en línea con un estudio anterior que indica que la edad es un factor importante en la agresividad entre machos C57BL/6J, ya que el destete temprano redujo las lesiones relacionadas con la agresión en esta misma cepa²⁴. Según nuestros datos, no es recomendable agrupar machos recién destetados de esta cepa con púberes (ver Figura 2B).

Con respecto a la cepa CD1, los machos adultos se describen como agresivos y territoriales²⁵⁻²⁷. En comparación con la cepa C57BL/6J, los machos CD1 mostraron una menor latencia al primer ataque en un paradigma de agresión incondicionada²⁸. Sin embargo, en nuestro estudio observamos niveles muy bajos de agresión entre ratones adolescentes, de acuerdo con un estudio publicado recientemente²⁹.

Hasta donde sabemos, ningún trabajo previo ha analizado el comportamiento agresivo en ratones macho SCID Beige. Solo observamos heridas leves debidas a peleas en un ratón recién destetado, lo que indica una agresividad preadulta entre machos muy baja en esta cepa. Curiosamente, las heridas leves desaparecieron después de introducir un nuevo cartón en la jaula,

de acuerdo con los datos obtenidos en un estudio en el que el enriquecimiento ambiental redujo la agresividad³⁰.

En vista de nuestros resultados, consideramos que es seguro reagrupar machos CD1 y SCID Beige solitarios recién destetados con ratones de hasta 54 días de otra camada (ver Figura 2C).

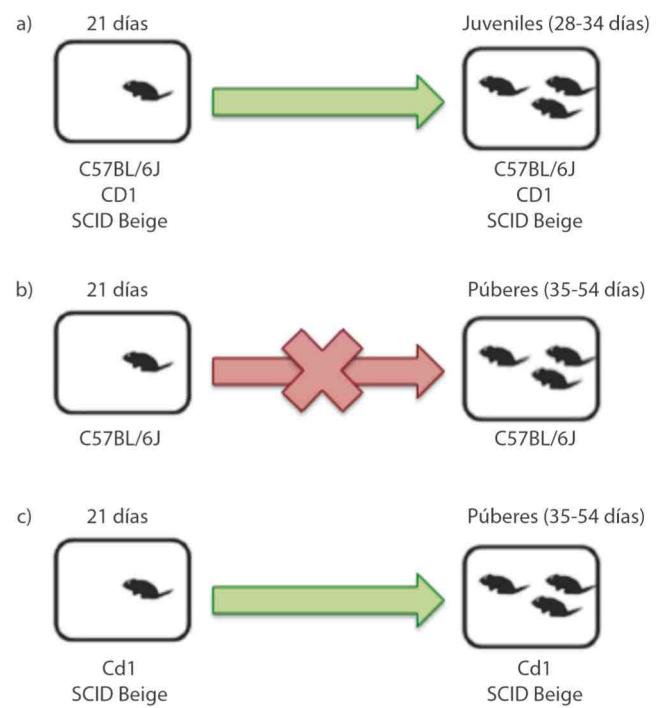


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Esquema de recomendaciones para agrupar ratones recién destetados con ratones juveniles o púberes de la misma línea en base a los resultados obtenidos en nuestros estudios^{21,22}.

NÚMERO DE RATONES DEL GRUPO HOSPEDADOR

Diversos estudios han propuesto optimizar el tamaño del grupo a tres machos por jaula^{29,31}. En nuestro último estudio²², el análisis estadístico no mostró que el tamaño del grupo de acogida afectara en la agresividad hacia el ratón recién destetado. Esto podría deberse a que en ningún caso superamos el límite máximo recomendado de ratones machos de laboratorio alojados en la misma jaula: un máximo de cuatro machos en una jaula 1145T (Tecniplast) en rack ventilado. Sin embargo, en las cubetas en las que se agruparon ratones recién destetados con un único ratón púber tardío de la cepa C57BL/6J se observaron heridas moderadas o severas en un 60% de las cubetas estudiadas. Además, curiosamente, el número de jaulas en las que

observamos comportamientos agresivos en esta cepa disminuyó a medida que aumentaba el número de machos hospedadores. Dato a tener en cuenta cuando se quieran reagrupar machos de la cepa C57BL6/J.

LIMPIEZA DE LA CUBETA RECEPTORA

La limpieza de las jaulas se ha identificado como un factor influyente en la agresividad a corto plazo en ratones machos²⁷. Sin embargo, estudios previos han reportado resultados contradictorios. Así, un estudio recomienda que los ratones se deben traspasar a jaulas completamente limpias, remplazando todo el material³², mientras que otros aconsejan transferir el material de anidación. El material del nido contiene feromonas con propiedades moduladoras de la agresión que pueden ser beneficiosas en grupos en los que la agresión ocurre tras el cambio de cubeta³³ y a su vez, no influye de forma negativa en el comportamiento animal en grupos con bajos niveles de agresión²⁷.

En nuestro último estudio²², analizamos la influencia de agrupar ratones recién destetados con ratones juveniles o púberes en dos condiciones extremas: jaulas limpias y sucias. La mitad de los ratones destetados se introdujo en jaulas limpias, con viruta (chopo), un tubo de cartón autoclavado como enriquecimiento ambiental y material de anidación limpio (dos pañuelos de celulosa irradiados). La otra mitad se introdujo en jaulas, donde los miembros del grupo de acogida ya estaban viviendo durante una semana con el mismo material descrito anteriormente, viruta de chopo, tubo de cartón y dos pañuelos de celulosa. Por lo tanto, las jaulas sucias se cambiaron por primera vez después de dos semanas. Resultados de un estudio anterior indicaron que, en estas condiciones, las jaulas 1145T (Tecniplast) en rack ventilado, con un flujo de aire constante de 70 cambios de aire por hora, viruta de chopo y un máximo de 5 animales por jaula, mantenían los niveles de amoníaco y dióxido de carbono dentro del rango recomendado durante dos semanas³⁴.

Después de estas dos primeras semanas, los animales se cambiaron cada semana. Hay que tener en cuenta que cuando el grupo de acogida estaba compuesto por un solo miembro, el día del agrupamiento se sacaron los compañeros de esa cubeta y se introdujo un ratón recién destetado en la misma.

Nuestros resultados estadísticos no identificaron la limpieza de las cubetas como factor. Sin embargo, se debe considerar que el número de jaulas en las que los comportamientos agonistas de los ratones púberes C57BL/6J hacia los recién destetados alcanzó

el 60% en las cubetas limpias. Nuestro protocolo establece, si bien, que en el cambio de cubeta el material de anidación siempre se transfiera a la jaula limpia^{35,36}, y en nuestra experiencia la prevalencia de agresividad entre machos es muy baja (1,9%)²¹.

CONCLUSIONES

Los resultados de nuestros trabajos^{21,22} indican que los ratones C57BL/6J, CD1 y SCID Beige recién destetados pueden agruparse con ratones juveniles de la misma cepa. A su vez, es seguro agrupar ratones CD1 y SCID Beige recién destetados con ratones machos púberes. Sin embargo, no recomendamos agrupar machos C57BL/6J recién destetados con machos púberes.

Agrupar ratones recién destetados con ratones juveniles de la misma cepa puede ser una estrategia útil para reducir el número de ratones machos socialmente aislados utilizados con fines científicos. Sin embargo, si finalmente los ratones deben ser alojados individualmente os recomendamos el siguiente protocolo de manejo de ratones individualizados³⁷.

BIBLIOGRAFÍA

1. Van Zegeren K. *Variation in Aggressiveness and the Regulation of Numbers in House Mouse Populations*. In Netherlands J. Zool. 1980;30:635.
2. Crowcroft P. *Mice all over*. G.T. Foulis Company: 7 Milford lane, London, UK 1966; p 123.
3. Hurst J.L. *Behavioural variation in wild house mice Mus domesticus Rutty: A quantitative assessment of female social organization*. Anim Behav. 1987;35(6):1846-57.
4. Cohn J. and MacPhail R.C. *Ethological and experimental approaches to behavior analysis: Implications for ecotoxicology*. Environ. Health Perspect. 1996;104(2):299-305.
5. Blanchard R.J. Hebert M., Sakai R.R., et al. *Chronic social stress: Changes in behavioral and physiological indices of emotion*. Aggress. Behav. 1998;24(4):307-24.
6. Jirkof P. *Burrowing and nest building behavior as indicators of well-being in mice*. J. Neurosci Methods. 2014;234:139-46.
7. Kalueff A.V., Stewart A.M., Song C., et al. *Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience*. Nat. Rev. Neurosci. 2016;17(1):45-59.
8. Arakawa H. *Ethological approach to social isolation effects in behavioral studies of laboratory rodents*. Behav. Brain Res. 2018;341:98-108.

BIENESTAR ANIMAL

9. Haj-Mirzaian A., Amiri S., Kordjazy N., et al. Blockade of NMDA receptors reverses the depressant, but not anxiogenic effect of adolescence social isolation in mice. *Eur J Pharmacol.* 2015;750:160-6.
10. Okada R., Fujiwara H., Mizuki, D., et al. Involvement of dopaminergic and cholinergic systems in social isolation-induced deficits in social affiliation and conditional fear memory in mice. *Neuroscience.* 2015;299:134-45.
11. Medendorp W.E., Petersen E.D., Pal, A., et al. Altered Behavior in Mice Socially Isolated During Adolescence Corresponds with Immature Dendritic Spine Morphology and Impaired Plasticity in the Prefrontal Cortex. *Front. Behav. Neurosci.* 2018;12:87.
12. Ago Y., Takahashi K., Nakamura, S., et al. Anxiety-like and exploratory behaviors of isolation-reared mice in the staircase test. *J. Pharmacol. Sci.* 2007;104 (2):153-8.
13. Koike H., Ibi D., Mizoguchi H., et al. Behavioral abnormality and pharmacologic response in social isolation-reared mice. *Behav. Brain Res.* 2009;202(1):114-21.
14. Amiri S., Haj-Mirzaian A., Rahimi-Balaeei M., et al. Co-occurrence of anxiety and depressive-like behaviors following adolescent social isolation in male mice; possible role of nitrergic system. *Physiol Behav.* 2015;145:38-44.
15. Manning C.J., Dewsbury Donald A., Wakeland Edward K., et al. Communal nesting and communal nursing in house mice, *Mus musculus domesticus*. *Anim Behav.* 1995;50(3):741-51.
16. Terranova M.L., Laviola G., de Acetis L., et al. A description of the ontogeny of mouse agonistic behavior. *J. Comp. Psychol.* 1998;112(1):3-12.
17. Makinodan M., Rosen K.M., Ito S., et al. A critical period for social experience-dependent oligodendrocyte maturation and myelination. *Science.* 2012;337(6100):1357-60.
18. Himmeler B.T., Pellis S.M., Kolb B., et al. Juvenile play experience primes neurons in the medial prefrontal cortex to be more responsive to later experiences. *Neurosci Lett.* 2013;556:42-5.
19. Sisk C.L. and Zehr J.L. Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Front. Neuroendocrinol.* 2005;26(3-4):163-74.
20. Luciano D. and Lore R. Aggression and social experience in domesticated rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 1975;88(2):917-23.
21. Azkona G. and Caballero J.M. Implementing strategies to reduce singly housed male mice. *Lab. Anim.* 2019;53(5):508-510.
22. Grifols R., Zamora C., Ortega-Saez I., et al. Postweaning grouping as a strategy to reduce singly housed male mice. *Animals.* 2020;10:2135.
23. Lidster K., Owen K., Browne W.J., et al. Cage aggression in group-housed laboratory male mice: An international data crowdsourcing project. *Sci. Rep.* 2019;9 (1):15211.
24. Gaskill B.N., Stottler A.M., Garner J.P., et al. The effect of early life experience, environment, and genetic factors on spontaneous home-cage aggression-related wounding in male C57BL/6 mice. *Lab. Anim. (NY).* 2017;46(4):176-84.
25. Parmigiani S., Palanza P., Rogers J., et al. Selection, evolution of behavior and animal models in behavioral neuroscience. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1999;23(7):957-69.
26. Bisazza A. Social organization and territorial behaviour in three strains of mice. *Boll. Zool.* 1981;48(2):157-67.
27. Van Loo P.L., Van der Meer E., Kruitwagen C.L.J.J., et al. Strain-specific aggressive behavior of male mice submitted to different husbandry procedures. *Aggress. Behav.* 2003;29(1):69-80.
28. Golden S.A., Aleyasin H., Heins R., et al. Persistent conditioned place preference to aggression experience in adult male sexually-experienced CD-1 mice. *Genes Brain. Behav.* 2017;16(1):44-55.
29. Jirkof P., Bratcher N., Medina L., et al. The effect of group size, age and handling frequency on inter-male aggression in CD 1 mice. *Sci. Rep.* 2020;10(1):2253.
30. Hutchinson E., Avery A., and Vandewoude S. Environmental enrichment for laboratory rodents. *ILAR J.* 2005;46(2):148-61.
31. Van Loo P.L., Van Zutphen L.F., and Baumans V. Male management: Coping with aggression problems in male laboratory mice. *Lab. Anim.* 2003;37(4):300-13.
32. Gray S. and Hurt J. The effects of cage cleaning on aggression within groups of male laboratory mice. *Anim. Behav.* 1995;49:821-6.
33. Van Loo P.L.P., Kruitwagen C.L.J.J., Van Zutphen L.F.M., et al. Modulation of Aggression in Male Mice: Influence of Cage Cleaning Regime and Scent Marks. *Anim. Welf.* 2000;9:281-95.
34. Ortega-Saez I. and Azkona G. Estudio comparativo de tres materiales utilizados como lecho para ratones de laboratorio. *Animales de Laboratorio.* 2020;87:52-4.
35. Annas A. and Bengtsson C.E.T. Group housing of male CD1 mice: Reflections from toxicity studies. *Laboratory Animals.* 2013;47:127-9.
36. Weber E.M., Dallaire J.A., Gaskill B.N., et al. Aggression in group-housed laboratory mice: Why can't we solve the problem? *Lab. Anim. (NY).* 2017;46(4):157-61.
37. Grífols R., Zamora C., and Azkona G. Manejo de ratones individualizados. *Animales de Laboratorio.* 2019;82:47-50.

Filtración efectiva en Unidades de Tratamiento de Aire (UTAs) para la reducción de partículas posibles portadoras virales presentes en el aire de interiores

Alberto Ruiz Álvarez
Application Engineer, AAF, S.A.

Palabras clave: filtración, interiores, COVID-19.

CONTROL EFICIENTE DE AEROSOLES

Según el último informe científico de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre la transmisión del SARS-CoV-2, existe una abrumadora evidencia de que los aerosoles desempeñan un papel importante –si no decisivo– en la propagación del virus SARS-CoV-2.

En general, los filtros de aire han representado el método más adecuado para la eliminación eficiente de los virus del ambiente, debido a su capacidad para controlar los niveles de partículas suspendidas y aerosoles, una técnica que ha sido investigada y validada en numerosos estudios durante años.

Así, el control o contención de aerosoles mediante una filtración eficiente es sinónimo de contención de la carga viral en el aire que respiramos dentro de los edificios, lo que en consecuencia conduce a una reducción significativa del riesgo de infecciones por inhalación de patógenos aerotransportados.

El objetivo de este documento es contribuir a una mejor comprensión de los aerosoles y sus características, junto con proporcionar explicaciones que determinen una correcta elección del filtro, crucial para reducir el riesgo de infección debido al aire posiblemente cargado de patógenos.

CARACTERÍSTICAS DE LOS AEROSOLES

Generalmente, un aerosol se define como un sistema de suspensión de partículas sólidas o líquidas en un gas, que actúa como portador. El aerosol incluye tanto las partículas como el gas que las contiene, siendo éste, normalmente, el aire. Los aerosoles se clasifican típicamente según su forma física y el modo en que son generados. Los distintos tipos de humo y niebla, o el hollín

procedente de la combustión de carburantes como el diésel, son ejemplos típicos.

El diámetro de las partículas en los aerosoles está en órdenes de magnitudes entre 0,01-10 µm (ver Figura 1). Por ejemplo, las partículas de combustión, generalmente, comienzan en un rango de tamaño de 0,01-0,05 µm, pero tienden a unirse entre sí formando partículas más grandes. Esos reducidos tamaños individuales no son visibles a simple vista, por lo que una cantidad de partículas de aerosol en el aire solo es visible –dependiendo del tamaño de las partículas– a partir de concentraciones de 10.000-100.000 partículas/cm³. Todas las acumulaciones de aerosoles a las que se pueden adherir microorganismos como hongos, bacterias, polen o virus se denominan bioaerosoles.

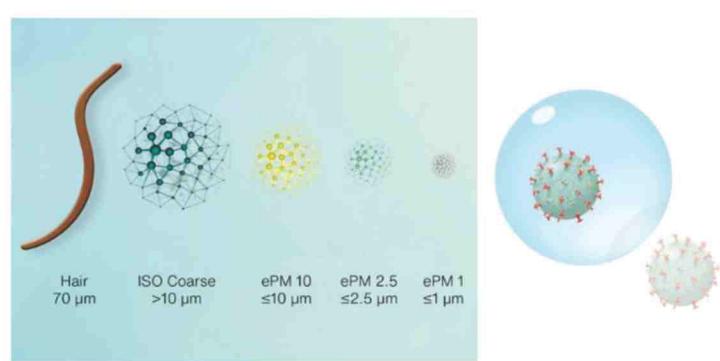


Figura 1.- Tamaños relativos de partículas y formación de aerosol.

CONEXIÓN ENTRE VIRUS Y AEROSOLES

En la actualidad, se siguen investigando intensamente las principales vías de propagación del coronavirus, sobre todo a través de aerosoles existentes en el aire que respiramos. Cuando

un paciente con coronavirus habla, tose o estornuda, se genera una emisión de gotas de distintos tamaños que se van acumulando en el interior de los edificios en forma de aerosoles. Todas estas gotas o aerosoles de distintos tamaños son portadores potenciales de virus, ya que estos tienden a adherirse a partículas más grandes.

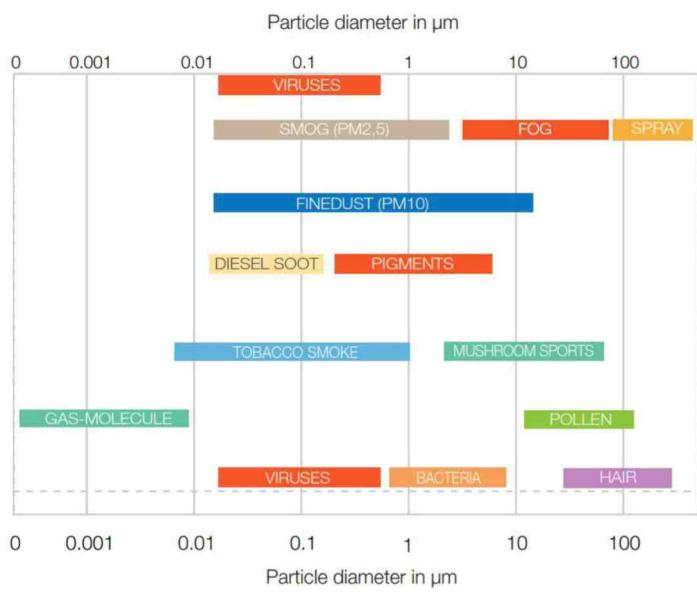


Figura 2.- Comparación de tamaño de sustancias sólidas y gaseosas en el aire.

Como muestra la Figura 2, los virus suelen tener un tamaño entre 0,02-0,4 μm. El SARS-CoV-2, en particular, está en el rango de tamaño de 0,06-0,1 μm. En las infecciones por pequeñas gotas, las partículas de virus contenidas en una gotita de saliva pueden llegar directamente a las mucosas de otras personas. En la transmisión por vía aérea, los virus ingresan al tracto respiratorio adheridos a esas diminutas partículas líquidas o bioaerosoles.

No sólo el tamaño de los aerosoles portadores es decisivo para el comportamiento de los virus en el aire, sino también: el clima en el interior, la tasa de renovación de aire y la forma en que se lleva a cabo la ventilación.

La propagación en un aire cargado de virus, como la que se produce al hablar, toser o estornudar, se produce en dos pasos. Primero se genera una corriente de aire contaminada al hablar/toser/estornudar, que se difunde en el aire de la habitación y se mezcla progresivamente con él. La dirección de la corriente de aire depende de varias condiciones: la velocidad, las posibles

turbulencias, la diferencia de temperatura frente al aire interior, o la diferencia en la humedad relativa (HR). Diversos estudios acreditan la generación de partículas de 0,01-1.500 μm al hablar, toser o estornudar. Bajo esta premisa, las partículas más pequeñas siguen en gran medida el flujo de aire de la habitación; mientras que las partículas más grandes caen, gradualmente, al suelo en un tiempo reducido. Estas partículas más grandes (como las que se emiten al estornudar) caen directamente al suelo en las inmediaciones del emisor; pero los pequeños bioaerosoles que se generan, casi exclusivamente, al hablar o toser, pueden permanecer en suspensión en abrumadoras cantidades lo suficientemente concentradas como para producir infección durante bastante tiempo.

TIEMPO DE SEDIMENTACIÓN: CUANTO MÁS PEQUEÑO ES EL AEROSOL, MÁS TIEMPO PERMANECE EN EL AIRE

En varios estudios se midió el llamado "tiempo de sedimentación" o "tiempo de deposición" de partículas de diferentes niveles de tamaño. Los resultados muestran que las partículas más pequeñas permanecen en el aire durante varios minutos o incluso horas. Si hay varias personas en una habitación y ésta no está lo suficientemente ventilada, el efecto se multiplica.

En general, los sistemas de climatización (HVAC, del inglés *Heating Ventilating and Air Conditioning*) que recirculan el aire interior pueden desempeñar un papel crucial en la propagación del virus dentro de un edificio, si los bioaerosoles no se eliminan de la corriente de aire. Con una tasa de renovación de aire determinada en torno a 7 renovaciones por hora (*), los virus activos (asumiendo una vida útil de 3 horas) pueden ser transportados en forma de aerosoles y recircular hasta 21 veces, diseminándose por todo el edificio a través de los conductos.

(*) cálculo basado en un edificio de 5.500 m² con una UTA operando a 12.000 m³/h, usando un banco de cuatro filtros de 600x600 mm con una velocidad de aire promedio de aproximadamente 2,2 m/s.

REDUCCIÓN EFICAZ DE PORTADORES DE VIRUS (AEROSOLE) EN EL AIRE MEDIANTE FILTRACIÓN DE AIRE

Todos los resultados mostrados anteriormente sugieren que el control o la contención de bioaerosoles mediante una filtración eficiente conduce a un riesgo reducido de infecciones por coronavirus u otros patógenos aerotransportados. En consecuencia, para conseguir una reducción de ese riesgo, hay que buscar la máxima eficiencia de filtración con un número mínimo de renovaciones de aire, y siempre a unos costes razonables, tanto de instalación como de operación (energéticos).

Suponiendo que la mayoría de los virus viajan en aerosoles de pequeño tamaño –en un rango de 0,3-1 μm –, la combinación adecuada de filtros de aire sin necesariamente ser de alta eficacia (HEPA, del inglés *High Efficiency Particulate Arresting*) sería capaz de capturar hasta el 98% de las partículas de ese tamaño en una sola renovación de aire (ver Figura 3).

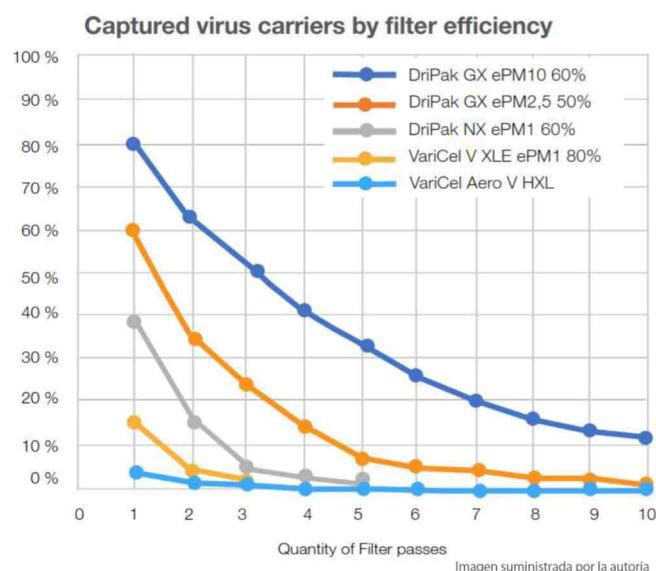


Figura 3.- Porcentaje de partículas de 0,3-1 μm potencialmente cargadas de virus que quedan en la corriente de aire.

RECOMENDACIÓN PARA REDUCIR EFICAZMENTE LOS PORTADORES VIRALES EN EL AIRE Y FILTROS RECOMENDADOS

Basándose en los resultados obtenidos por la experiencia y el conocimiento adquirido durante décadas de investigación en la industria de la filtración de aerosoles, se puede obtener una solución rentable de filtración altamente eficiente para reducir los aerosoles virales, que puedan afectar a los operadores de las unidades de tratamiento de aire (UTAs).

Los filtros generalmente utilizados en estas unidades se ensayan y clasifican conforme a la norma internacional ISO 16890. Esta norma clasifica los filtros por su eficiencia de filtración para los grupos de tamaño de partícula ISO ePM₁, ISO ePM_{2,5}, ISO ePM₁₀ e ISO grueso (ver Figura 4).

El uso de filtros HEPA regulados por la norma EN1822 es muy poco habitual en estas unidades, debido a los elevados costes energéticos dados por su elevada resistencia al paso del aire. Sin embargo, la combinación de un prefiltro ePM₁ 65% y un filtro ePM₁ 95% como filtro principal puede ofrecer con una sola renovación de aire una eficiencia combinada de hasta el 99,7% contra aerosoles portadores de tamaño 0,3-1 μm , a la vez que ofrece una reducida pérdida de carga inicial de tan sólo 170 Pa y una capacidad de retención de polvo de 2.850 g.



Figura 4.- Clasificación ISO 16890, en la que se muestran las capacidades mínimas de filtración que ha de cumplir cada tipo de filtro para encuadrarlas en cada clase.

El uso de purificadores de aire también puede servir de ayuda para aumentar las tasas de renovación de aire y el grado de eficiencia de filtración en el interior de los edificios. Se trata de unidades móviles autónomas de fácil manejo e instalación que permiten la recirculación del aire para una filtración extra, manejando caudales de hasta 2.000 m³/h. Estas unidades están dotadas de filtración HEPA tipo H14 y, opcionalmente, pueden ir equipadas con luces UV para buscar la inactivación de los virus y microorganismos recogidos en su interior.

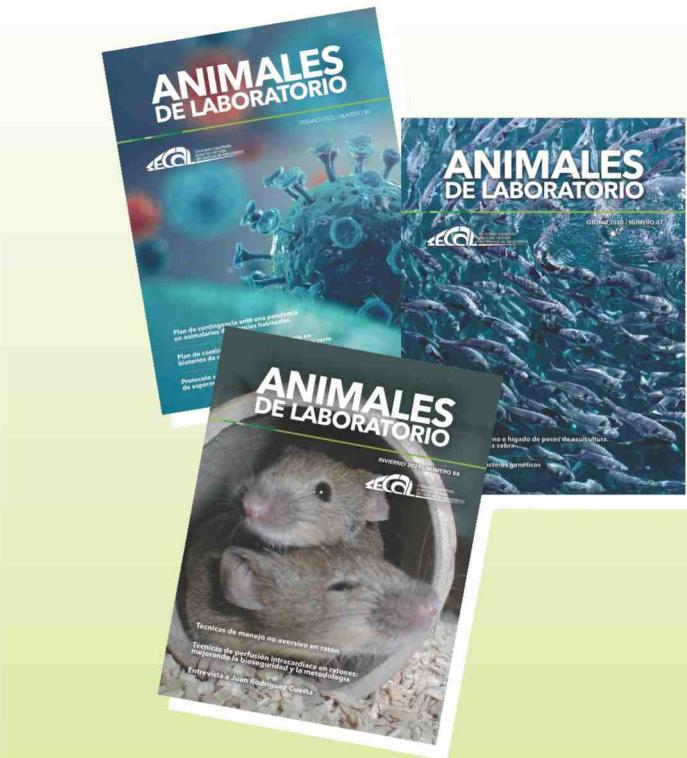
TRABAJOS DE RECAMBIO Y MANTENIMIENTO DE FILTROS DURANTE UNA PANDEMIA

En este punto es muy importante enfatizar que la reducción de partículas cargadas de virus en el aire no es lo mismo que su inactivación. Mediante una filtración adecuada, estas partículas nocivas quedan "atrapadas" evitando su propagación, pero pueden no quedar inactivas de inmediato.

Al realizar un cambio de filtros existe el riesgo de entrar en contacto con contaminantes aún activos. En este sentido, la crisis de salud originada por el coronavirus no ha cambiado nuestra posición general sobre las mejores prácticas para efectuar el cambio de filtros cargados de partículas, lo que siempre conlleva un riesgo para el operador durante las tareas de mantenimiento, además de la necesidad de gestión de un residuo contaminado. Por lo tanto, es de vital importancia que al reemplazar los filtros usados se use un equipo de protección individual adecuado para riesgo biológico, protocolos diseñados para tal fin, y una gestión eficaz de los residuos.

PARA SABER MÁS

- Jayaweera M., Perera H., Gunawardana H., et al. *Transmission of COVID-19 virus by droplets and aerosols: A critical review on the unresolved dichotomy*. Environmental research. 2020;188:109819.
- Lu J., Gu J., Li K., et al. COVID-19 Outbreak Associated with Air Conditioning in Restaurant, Guangzhou, China, 2020. *Emerg Infect Dis*. 2021;26(7):1628-31.
- Van Doremalen N., Bushmaker T., Morris D.H., et al. *Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1*. *The New England Journal of Medicine*. 2020;382(16):1564-7.
- *Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions: scientific brief*, 09 July 2020. World Health Organization.
- https://blogs.tu-berlin.de/hri_sars-cov-2/
- https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/7/20-0764_article



**Más de 400 socios
relacionados con el sector
de los animalarios**

**Anúnciate
en nuestra
revista**

publicidad.revista@secal.es

Your global operating experts in lab animal diets.



As an ISO-certified company
with over 50 years of experience
we offer you
standardized animal nutritional solutions
and customized special diets.



Suministros para animalarios





¿Te gusta la fotografía?

¿Haces fotos en el animalario
o te apetecería hacerlas,
pero no encuentras el momento
ni la justificación?

¿Te gustaría ver alguna
de tus fotos en la portada
de nuestra revista?



ENVÍANOS TUS FOTOS A:

direccion.revista@secal.es



Estos son los requisitos que necesitan las imágenes
para convertirse en FOTOS DE PORTADA:

Formato JPG

Alta resolución: (mínimo) 300 ppp

Orientación en vertical: 21,4 cm x 28,4 cm

**¡Anímate y forma parte de la historia
de la revista de la SECAL!**

Entrevista Hernán Serna (Binaex) y Juan M. Baamonde (Bioterios.com)

Organizadores de *ExpoBioterios Virtual 2020*



De izquierda a derecha: Hernán Serna Duque y Juan Manuel Baamonde.

En primer lugar, como no podía ser de otra forma, ¡enhorabuena! Un evento online que reúne a decenas de personas a un lado y otro del charco es un acontecimiento ya exitoso por su poder de conexión entre tantos profesionales. Pero como nos gustan mucho las estadísticas, vamos con los números (de participantes, ponentes, empresas, etc.).

De antemano damos gracias a la SECAL por el apoyo que nos brindó desde el principio en esta aventura virtual. Hicimos un congreso que se salía de lo habitual y no nos esperábamos tener tanta acogida. Los números, más o menos, fueron por aquí: 2 días de congreso, con 22 horas de transmisión en vivo, 17 ponencias y 17 ponentes de 7 países, 6 ponencias técnico-comerciales. 1.355 inscritos de 29 países, 2 pabellones comerciales, 42 empresas patrocinadoras, 39 stands, 2.500 charlas en los chats de asistentes y un personal técnico de 13 personas.

Contadnos como surge la idea y cómo toma forma.

Como la mayoría de los eventos virtuales que se hicieron en el 2020, ExpoBioterios Virtual (EBV) tenía un origen presencial, en la ciudad de Valdivia (Chile). Cuando nos dimos cuenta que la

pandemia era un tema a largo plazo tomamos la decisión de suspender su versión presencial y empezamos a darle forma a una modalidad virtual. No fue fácil, porque todo el dinero que habíamos invertido se había perdido y nos tocaba comenzar una nueva aventura sin saber cómo podía funcionar en medio de una crisis económica mundial. Nos tomamos un mes para sumergirnos en el mundo de los congresos virtuales, revisamos precios y opciones, pusimos en la balanza los pros y los contras y nos lanzamos desde la montaña rusa con más ganas que certezas.



Así fue 2020, un año de parón de encuentros presenciales. La crudeza de una enfermedad que azota el mundo y que nos obliga a estar alejados. EBV fue un punto de reunión en muchos aspectos. ¿Cómo valoráis el factor humano del evento, a pesar de la obligada distancia?

El factor humano era fundamental para nosotros, no queríamos que fuera un Zoom, como muchos eventos que salieron al aire en ese momento. Buscábamos que los asistentes pudieran interactuar entre ellos, con los conferencistas y con los expositores comerciales. Por eso era fundamental que el diseño de la plataforma fuese amigable y en español para facilitar nuestro objetivo. Las presentaciones científicas funcionaron como si fuese una transmisión televisiva, con presentaciones, interacciones y hasta bloques publicitarios. Solamente se grabaron las presentaciones en inglés para poder agregarles subtítulos en español. Todos los presentadores pudieron contestar preguntas en tiempo real.

Las empresas se comunicaron con sus potenciales clientes vía chat o video llamada lo que maximizó la experiencia. Como si esto fuera poco, había un chat general para que los asistentes

ENTREVISTA

pudieran sacarse la ansiedad enviando sus comentarios y un muro social tipo Facebook para publicar fotos o mensajes.

En resumen, se consiguió reunir a mucha gente de distintos países y continentes, algo que, normalmente, es complicado de alcanzar en los eventos presenciales por los problemas asociados a la distancia geográfica y los recursos que se necesitan para trasladarse.

"Se consiguió reunir a mucha gente de distintos países y continentes, algo que, normalmente, es complicado de alcanzar en los eventos presenciales por los problemas asociados a la distancia geográfica y los recursos que se necesitan para trasladarse".

Las ponencias fueron interesantes y variadas, ¿qué criterio seguisteis a la hora de elegir temáticas?

Justamente esa era la idea, que fuesen temas variados e interesantes tanto para un técnico de Bioterio, como para un investigador o un veterinario. Eso se resolvió fácilmente por la calidad de los ponentes, todos ellos poseedores de una amplia trayectoria en el ámbito de los animales de laboratorio.

La calidad científica y también las novedades técnicas y legislativas son algunos de los ingredientes de un congreso al uso. ¿Cuál es el toque innovador que trabajasteis en el evento?

Buscamos expositores de diferentes países para transmitir la realidad según su origen. También quisimos sumarle cantidad a la calidad, fueron dos jornadas muy intensas con mucha información e interacción. Casi no hubo pausas para ir al baño o hacerse un sándwich.

Un aspecto que no se puede obviar en un congreso es la participación de las empresas. La zona de stands virtuales agrado y sorprendió. ¿Cómo valoráis la interacción que se generó entre profesionales participantes y las marcas comerciales presentes de forma virtual?

Este era el gran desafío: las empresas estaban asustadas por la crisis económica y muchas dudaban de participar. Algunas nos transmitieron su desagrado por experiencias poco felices en

eventos virtuales recientes. Otras esperaban la vuelta a la normalidad para retomar sus funciones.

Se trabajó mucho en el diseño de los stands para que las empresas pudieran exponer sus productos o servicios de la mejor forma posible. Se generaron espacios en el programa para que la gente visitara la feria y hasta se organizó un ranking con puntos, los cuales se obtenían al interactuar en los diferentes stands, con premios muy interesantes.

Ambos sois profesionales con dilatada experiencia y habéis demostrado con este evento que digitalizar los entornos de colaboración en el ámbito científico es posible y efectivo, (aunque no es lo mismo sin compartir charla alrededor de una mesa, que en realidad es lo que más nos gusta). ¿Qué posibilidades le veis a este tipo de encuentros con pandemia o sin ella?

J.B.: Como dijo Hernán Serna en varias oportunidades durante la EBV 2020, ExpoBioterios Virtual llegó para quedarse. Entendemos que los eventos virtuales bien organizados son una fuente invaluable de información para los asistentes y una gran oportunidad de negocio para las empresas. La inversión monetaria para unos y otros se reduce y se puede participar desde la comodidad de casa y en primera fila.

H.S.: Esto no quita que se vayan a reactivar los congresos presenciales, son necesarios incluso psicológicamente. Yo quizás apostaría por un modelo híbrido para el futuro; la pandemia es una curva de aprendizaje para los organizadores y esto hará que todos los formatos sean válidos.

"Entendemos que los eventos virtuales bien organizados son una fuente invaluable de información para los asistentes y una gran oportunidad de negocio para las empresas".

Como decíamos al principio, un encuentro a ambos lados del charco. Las sinergias entre las diferentes sociedades como la SECAL son un horizonte abierto. ¿Cómo veis el futuro?

Nos pareció una idea muy interesante e innovadora reunir en el área de exposición a diferentes sociedades de Latinoamérica

ENTREVISTA

ANIMALES DE LABORATORIO
PRIMAVERA 2021 / NÚMERO 89

junto a la SECAL y a AALAS, algo que normalmente no ocurre en los eventos a los que concurrimos.

Estamos seguros que este fue el primer paso de muchos otros que vendrán para que las sociedades puedan trabajar en conjunto para potenciar sus posibilidades. La distancia ha dejado de ser una excusa.

"Estamos seguros que este fue el primer paso de muchos otros que vendrán para que las sociedades puedan trabajar en conjunto para potenciar sus posibilidades. La distancia ha dejado de ser una excusa".

Ahora alguna anécdota del evento, ¡seguro que tenéis unas cuantas!

J.B.: Una de mis anécdotas favoritas tuvo lugar en una reunión que tuvimos vía Zoom con una empresa holandesa. El Dr. Marcel Perret-Gentil fue un colaborador esencial en la organización y parte fundamental de los dos días de evento. Una de sus funciones principales, en los meses previos, fue ayudarnos con el inglés al momento de contactar empresas extranjeras. Ese día lo teníamos todo organizado para reunirnos, pero cuando llegó la hora de la reunión Marcel no aparecía y teníamos al holandés esperando para entrar. Le escribimos desesperadamente a su correo y por WhatsApp, pero no daba señales. Pensamos en suspender la reunión mientras demorábamos el ingreso del representante de esta empresa. Finalmente, Hernán me dijo que lo hiciéramos entrar y que tratáramos de explicarle, en el mejor inglés posible, que no íbamos a poder hacer la presentación. Para nuestra sorpresa el susodicho nos saludó en español, idioma que manejaba perfectamente porque su esposa era española. Estuvimos cinco minutos a las risas recordando los momentos previos llenos de tensión y nerviosismo.

H.S.: Aún me da la risa nerviosa del día del holandés... yo quizás como anécdota incluiría la relación con el Dr. Marcel Perret Gentil, que en un principio era de un orden muy profesional y serio, para luego continuar en ese mismo orden, pero algo más distendido, lleno de bromas y risas en cada reunión que teníamos.



Vamos a las bambalinas de la producción, hubo momentos muy dinámicos, que recordaban al medio televisivo. Se palpaba mucha energía, aunque supongo que debió ser agotador. Contadnos.

La clave del evento fue que no eran charlas independientes entre sí, justamente se buscó una conexión entre cada presentación. Gran mérito en conseguir ese ambiente televisivo lo tuvo el grupo de profesionales a cargo del *streaming*. Y es que, precisamente, esta empresa trabajó muchos años en transmisiones relacionadas al mundo de la televisión.

Los días previos al evento fueron agotadores, con jornadas eternas de trabajo. Con decirles que tan sólo dormí una hora antes de comenzar la primera jornada de la EBV (J.B.). En el *backstage* de la EBV se hizo mucho trabajo de coordinación y puesta a punto, para que los presentadores pudieran brillar en el escenario virtual. Casi no había tiempo de pararse de la silla, ¡fueron días muy intensos!

Con la mirada puesta en ExpoBioterios 2021 y ahora que nadie nos escucha... ¿alguna primicia que se pueda contar?

J.B.: Hernán y yo tenemos una manera de trabajar del estilo *brainstorming*, nos juntamos y empezamos a crear, y cuando una idea parece imposible de concretar buscamos la forma de conseguirlo. Somos dos personas con mucha autocrítica y exigencia en todo lo que hacemos, algo fundamental para corregir lo que no estuvo tan bien y mejorar aún más lo que se ve perfecto o intocable. Les prometemos que ExpoBioterios Virtual 2021 será aún mejor que el anterior, con cambios en el programa

ENTREVISTA

científico, con un diseño renovado y atractivo en los stands y en la plataforma del evento, con mayores instancias para que los asistentes puedan interactuar y participar. Queremos superarnos año a año y creemos que el límite es nuestra imaginación. No tengan dudas que habrá sorpresas al por mayor en esta nueva edición.

"Les prometemos que ExpoBioterios Virtual 2021 será aún mejor que el anterior, con cambios en el programa científico, con un diseño renovado y atractivo en los stands y en la plataforma del evento, con mayores instancias para que los asistentes puedan interactuar y participar".

H.S.: Añadir que estamos buscando el show de cierre (el EBV 2020 tuvo una gloriosa despedida con el grupo de Fernando Benavides, OndaStereo). Así que aprovechamos para lanzar un llamamiento: cualquier colega de nuestro ámbito que tenga un arte, el que sea, cantar, bailar, cocinar... ¡qué se ponga en contacto con nuestro equipo de audiciones!

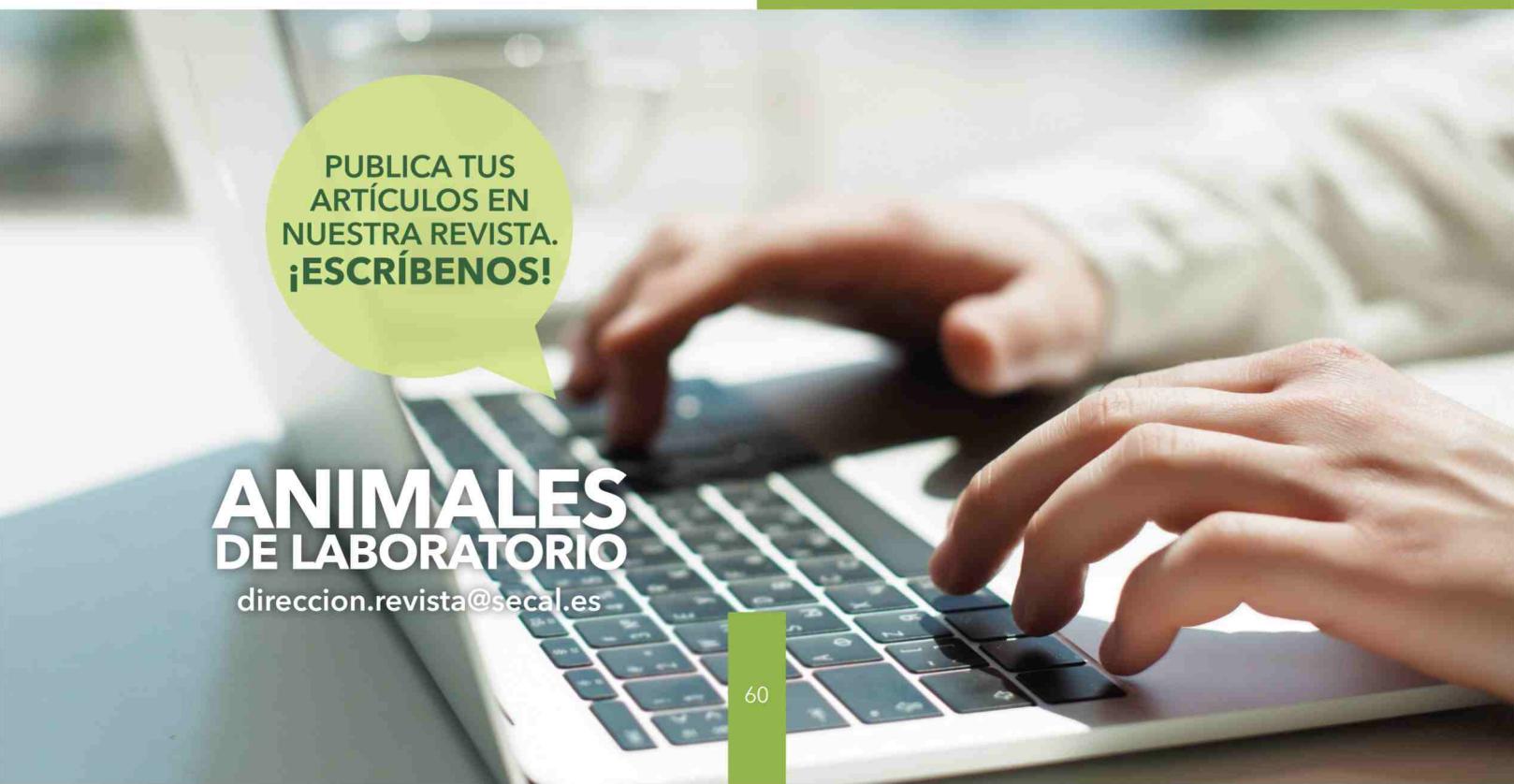
Está claro que vais a por todo este año. Entonces, ¿cuáles son vuestras expectativas para la nueva edición en cuanto a participación, resultados y repercusión en nuestro ámbito?

Tenemos la intención de que EVB se transforme en un punto de encuentro para los asistentes, las sociedades y las empresas. Tuvimos una repercusión muy positiva y gratificante de parte de todos los que participaron en la última edición. Esperamos que en esta ocasión se animen a participar aquellas empresas que no confiaron por falta de conocimiento y experiencia el año pasado. Con trabajo y seriedad todo es posible, confiamos ciegamente en la herramienta virtual que manejamos.

Lanzad, en una frase a modo de eslogan, un llamamiento para la edición EBV 2021.

"J.B.: Os esperamos en ExpoBioterios Virtual 2021 con una plataforma aún más potente y atractiva que os hará olvidar el distanciamiento virtual.

H.S.: La cultura del cuidado en ExpoBioterios Virtual 2021".



PUBLICA TUS
ARTÍCULOS EN
NUESTRA REVISTA.
¡ESCRÍBENOS!

**ANIMALES
DE LABORATORIO**

direccion.revista@secal.es





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



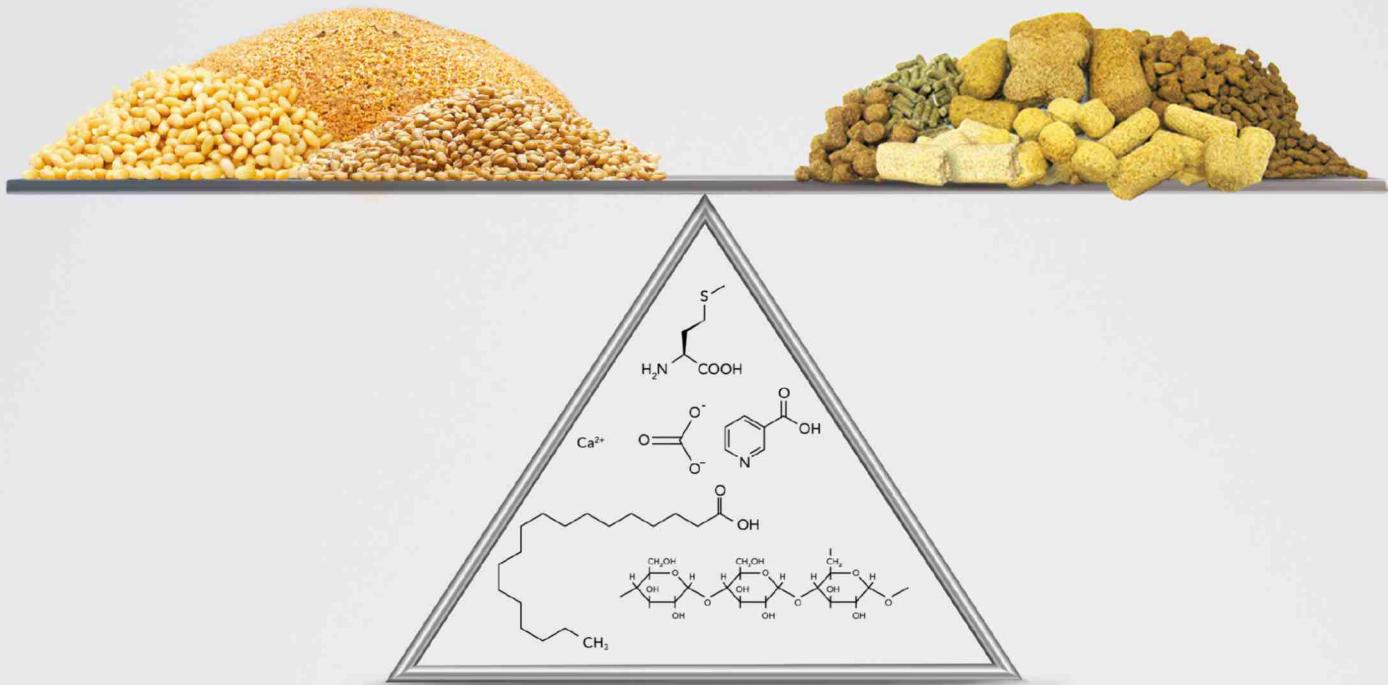
The Weight is Over.

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

Teklad Global Diets®

Ingredient selection is key to reducing rather than introducing variation



+

Envigo Teklad's fixed formula diets contain the same ingredients, in the exact same quantities, in every batch of diet. This translates to more consistent, reliable and meaningful research results.

Request a consultation with our experienced nutritionists -
askanutritionist@envigo.com

+