

A DE LABORATORIO ANIMALES S



1 NOTICIAS DE SECAL

- ASESORÍA EN ARGENTINA

2 ARTÍCULOS

- ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS Y PROTOCOLOS DE TRATAMIENTO TÉRMICO DE DIETAS PARA ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

3 LIBROS Y CONVOCATORIAS

4 VARIOS

**H
A
R
L
A
N**

*Ayudando a la investigación a
responder al desafío a nivel mundial*



DIRECTOR

Manuel Moreno

REDACCIÓN

José M^o Orellana
Carmen Fernández
Josep Tur Marí
Nuria Basi
J. M^o Garrido
Luis Muñoz
Diego Díaz

COLABORADORES

Jordi Cantó
Patri Vergara
Emilio Fadura
Ignacio Álvarez
Fernando Núñez
Helena Asensi
Javier Palacín
Susana Serna

PUBLICIDAD

Emilio Fadura
Diego Díaz

DISEÑA - IMPRIME

Enrique Nieto
& Asociados, S.A.
Tel.: 91 548 76 70

DEPÓSITO LEGAL

M-1362-1999

Publicamos por primera vez un número casi monográfico por la inclusión de un macroartículo que esperamos resulte de interés. Este tipo de artículos tiene difícil cabida en nuestra revista porque su extensión ocupa casi la totalidad de las páginas que tenemos previstas, son por otra parte, artículos de gran interés para un sector de socios ya que supone el tratamiento exhaustivo de un tema con la consiguiente aportación de información útil. Nos cabía, sin embargo la duda, del interés que pueda tener para otra parte de los socios. Finalmente no inclinamos por su publicación y de vuestras críticas o aprobaciones dependerá la posibilidad de realizar nuevos monográficos en el futuro.

En otro orden de cosas, seguimos a la espera de que acaben de madurar los frutos de la reunión de Madrid sobre Comités Éticos. Las buenas perspectivas que se auguraban tras la reunión se paralizaron con la llegada del verano y parece que les cuesta arrancar. Confíemos en que para el próximo número os podamos dar alguna información del estado de la cosecha.

Estamos a un año del congreso de Zaragoza, del que, en breve, empezareis a recibir información y en el que esperamos contar con todos vosotros. Recordaros que además de los temas científicos durante el congreso tendrá lugar la asamblea de socios y la correspondiente elección de siete nuevos miembros para la Junta de Gobierno. Si hasta ahora no has participado en la misma puede que ya haya llegado el momento, y si lo has hecho con anterioridad y te sientes con fuerzas renovadas, también es el momento.

Agradecemos a los editores de la revista Animales de Experimentación la reseña que sobre nuestra Revista publicaron en su número de julio pasado. Nuestras revistas no son ni tienen por que ser competidoras, antes al contrario, la colaboración y la complementariedad entre ambas debe ser la norma. Nuestra solo pretende ser un vehículo de información para los propios miembros, y en ello ponemos todo nuestro empeño. Gracias de nuevo, en nombre de todos los que participamos en esta tarea, y felicidades también por su publicación, cuyos objetivos son mucho más amplios que los nuestros y cuya aparición llenó un importante hueco en el campo de las ciencias del animal de laboratorio.

JUNTA DE GOBIERNO DE LA SECAL

PRESIDENTE:

C. Fernández Criado
U. Autónoma de Madrid
Fax: 91 397 53 53
cfcriado@fmed.uam.es

VICEPRESIDENTE:

Jordi Cantó Martorell
U. Autónoma de Barcelona
Fax: 93 581 25 88
jordi.canto@uab.es

SECRETARIO:

I. Álvarez Gómez de Segura
Cirugía Experimental
Hospital "La Paz" Madrid
Fax: 91 729 22 80
lagsegur@ctv.es

VICESECRETARIA:

Nieves Salvador Cabos
Instituto S. R. Cajal. Madrid
Fax: 91 585 47 54
nieves@cajal.csic.es

TESORERA:

Gloria Lete Vergara
Univers. País Vasco/E.H.U.
Vizcaya. Fax: 94 464 81 52
lmzleveg@lg.ehu.es

VICETESORERO:

E. Fadurdo Torrús
Lab. Diagnóst. General (LDG).
Barcelona. Fax: 93 415 10 44
ldg@c1313.es

VOCALES:

X. Armengol Barniol
Nuria Basi Moré
Javier Guillén
Jesús Martín Zúñiga
Fernando Núñez Martín
Neus Prat Costa
J. A. Tur Marí

SOC. BENEFADORES:

BEDCO S.C.P.
BIOSIS S.L.
CIBERTEC
CRIFFA
DIVERSEY LEVER
FAGESA S.A.
GRANJAS S. BERNARDO
HARLAN INTERF. IBERICA
ISOQUIMEN
JANVIER ESPAÑA S.L.
JAYTE S.L.
OXIDINE
PANLAB S.A.
RUBILADOR
STERIS-FINACUA
SURALIT
WORLD-COURIER

JUNTA DE GOBIERNO

REUNIÓN DE LA JUNTA DE LA SECAL

CELEBRADA EN ZARAGOZA EL 3 DE NOVIEMBRE DE 2000:

Informe de la Presidenta:

- La Comunidad Autónoma de Madrid, permite a los veterinarios colegiados extender recetas de medicamentos en papel membreteado del centro de investigación, si figura su firma y número de colegiado y se especifica que son para uso en animales de laboratorio. La farmacia será quien envíe mensualmente estas recetas al Ministerio para su control. Se enviarán cartas a la Consejería de Sanidad de cada Comunidad autónoma y al colegio de farmacéuticos para comprobar que siguen el mismo procedimiento que la Comunidad Autónoma de Madrid.
- El asunto de los primates en Cataluña todavía sigue sin resolverse, la construcción del centro de Tarragona sigue paralizada, aunque las respuestas del Presidente del Parlamento de Cataluña, y de los Consejeros de los departamentos de Sanidad y Seguridad Social y Agricultura de la Generalitat comparten nuestra visión del problema.
- Se ha pedido a SECAL que participe en un debate radiofónico en RADIO 5 sobre los animales de experimentación.
- Se realiza el primer Congreso luso sobre animales de experimentación. Nuria Basi y Javier Guerrero participarán en las mesas redondas de "Técnicas alternativas" y "Comités éticos". Además, en el Congreso se presentará a la SECAL. Los lusitanos quieren constituirse en Sociedad.
- Nuria Basi informó del cambio de Dña. Consol Fina por Dña. Nuria Querol en la Comisión ética de experimentación animal. La Comisión continúa trabajando y observa una mejora en la presentación de los proyectos de investigación.

Relaciones con otras sociedades

- REMA realiza reuniones cada 3 meses, y aunque todavía no tiene un reglamento se quiere formalizar como Fundación.
- El próximo congreso de la Sociedad Europea de Técnicos AEFAT se realizará en Marzo del 2001.

Traducciones de libros y monografías

- El libro de resúmenes del Congreso de Mallorca se espera pueda distribuirse a todos los asistentes a primeros de año.
- El libro de referencia para el curso de Categoría C de FELASA está terminado. Se presentará en enero de 2001.

Cursos

- El segundo Curso de criopreservación de células germinales y embriones se desarrollará en febrero del 2001, tendrá una duración de 3 días y un máximo de 16 alumnos.
- Se encuentra en preparación un curso sobre bioseguridad, en el que participarán GLAXO, el Centro del INIA de Valdeolmos y SECAL, y unas jornadas sobre los factores de riesgo y prevención de las alergias, ambos sin determinar aún fechas.



Noticias de la SECAL

ASESORÍA EN ARGENTINA

El Programa FOMECA de ámbito internacional invitó al Dr. Alberto Giráldez como asesor de los cursos de formación en las ciencias de animales de laboratorio, para directores de investigación (categoría C de FELASA) que se vienen cursando en la ciudad de Buenos Aires conjuntamente entre las facultades de Veterinaria, Farmacia y Bioquímica, Ciencias Exactas y Naturales y Escuela de Técnicos de Bioterio. La asesoría se llevó a cabo en largas sesiones de programación con el Comité Organizador de dichos cursos, que abarcaron las distintas facetas, desde la logística, el profesorado y alumnado, el contenido de los programas, el tipo y duración de

las prácticas, visitas a instalaciones,...hasta la titulación conferida.

Aprovechando su estancia en Buenos Aires, el Dr. Giráldez dictó un cursillo, en la Facultad de Veterinaria, sobre Valoraciones Biológicas *in vivo*, al que asistieron investigadores de varias universidades y centros del país.

Asimismo, la Junta de la Asociación Argentina de Ciencias de Animales de Laboratorio, reunida en Buenos Aires, le invitó a asistir a la misma para tener un fructífero intercambio de experiencias y proyectos, que se dio en un ambiente de cálida amistad.



LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO GENERAL

ANÁLISIS CLÍNICOS VETERINARIOS

C/. Verdi 78, bajos · 08012 Barcelona
Tels. 93 217 38 40 · 93 217 35 80
Fax 93 415 10 44
E-mail: ldg@c1313.es

ANÁLISIS DE PRODUCTOS

CONTROL DE INSTALACIONES

LDG está acreditado para la realización de **ANÁLISIS y CONTROL DE CALIDAD**

Generalitat de Catalunya
Departament de Medi Ambient
Junta de Sanejament

Generalitat de Catalunya
Departament de Sanitat
i Seguretat Social

Generalitat de Catalunya
Departament d'Agricultura,
Ramaderia i Pesca
Direcció General de Producció
i Indústries Agroalimentàries
Servei de Protecció a la Qualitat Agroalimentària



MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD DE LA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA



MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO
DIRECCIÓN GENERAL DE FARMACIA Y PRODUCTOS SANITARIOS

AUDITORIAS



ARTÍCULOS

ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS Y PROTOCOLOS DE TRATAMIENTO TÉRMICO DE DIETAS PARA ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Jesús M. Zúñiga¹, Emilio M. de Victoria², Alfonso R. Bravo³, M^a José G. Chicano¹ Juan S. Molina¹

¹ Unidad de Producción y Experimentación Animal, CIC, ² Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos

³ Dpto. Microbiología, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, 18071 Granada, España

RESUMEN

La pasteurización garantiza, a partir de los 105°C (15 minutos de tratamiento térmico y 25 minutos de secado) la pérdida del contenido microbiológico del pienso incluidas las formas de mayor resistencia al calor. No obstante en partidas de pienso sospechosas o en malas condiciones, se debería tratar a temperatura (t°) > 105°C y < 121°C, para garantizar la eliminación de toda fuente de contaminación sin necesidad de hacer un análisis microbiológico del pienso. En este sentido se considera que 115 °C (3 prevacíos, 15-20' de esterilización, 25' de secado) es la temperatura más adecuada, cumpliendo sobradamente las expectativas de control de calidad microbiológica, sin producir alteraciones apreciables en el crecimiento y desarrollo de los animales de laboratorio ensayados. Por otra parte las formas innovadoras de encapsulado de las vitaminas liposolubles y termolábiles (E y D₃) les proporcionan una mayor resistencia al calor, lo que hace injustificado el adicionar vitaminas a las dietas para su esterilización siempre y cuando esta sea inferior a los 121 °C.

Esto permite tratar térmicamente las dietas usuales destinadas a los animales en mantenimiento y reproductores, suministradas por las casas comerciales, sin mermas apreciables en el crecimiento y productividad. Las alteraciones en la asimilación del nitrógeno sobre todo en animales en fase de crecimiento desaconseja esterilizar a $t^{\circ} \geq$ a 121 °C.

PALABRAS CLAVES: dietas, tratamiento térmico, control de calidad, reactivos biológicos, rata

España es posiblemente el país de la UE que ha tenido, a nivel comparativo, un mayor desarrollo en los últimos diez

años en la ciencia y tecnología del animal de laboratorio, especialmente en el campo de la mejora, optimización y creación de instalaciones destinadas a la producción y mantenimiento de reactivos biológicos. Este proceso se ha visto favorecido por el incremento cuantitativo y cualitativo de la investigación en biomedicina y ciencias de la salud, su nivel de impacto y el desarrollo de I+D cada vez más competitivos y de nivel internacional. Como consecuencia se ha generalizando el empleo de animales convencionales de alta calidad (CV), animales libre de gérmenes patógenos (SPF) y la utilización de especies y cepas más complejas, como transgénicos, inmunodeprimidos o genéticamente controlados demandados por la ingeniería genética o la biotecnología. Igualmente se observa demanda ocasional de animales libre de gérmenes (GF).

Las instalaciones han sido provistas de barreras físicas que garantizan la calidad del animal y su imposibilidad de contaminación, destacando la generalización del empleo de autoclaves industriales o semi industriales para la esterilización del material y equipo que entra en la barrera (zona «limpia»), desde las cubetas y sus accesorios, pasando por el agua o las virutas utilizadas como cama.

Frente a esta situación son muy pocos los centros (en torno al 10%, n=54, según encuesta 1997-1998) que someten a proceso de esterilización o similar los piensos compuestos peletizados destinados a la alimentación de los animales, ya sea en fase de producción, mantenimiento o experimentación. El usuario considera una gran responsabilidad someter a tratamientos de este tipo a las dietas por temor a pérdidas en su valor nutritivo o alteraciones en su composición, palatabilidad, digestibilidad o naturaleza física (forma, tamaño, dureza, color, textura) que pueden afectar

al desarrollo y crecimiento normal de los animales o a la interpretación de los resultados experimentales.

Esta reticencia generalizada es debida, en gran parte, a la falta de información por parte de las casas proveedoras o productoras de dietas, acerca del protocolo de esterilización a seguir, si bien la mayoría suministran dietas esterilizables sobredosificadas de compuestos mineralo-vitamínicos, sin más especificaciones. Estas dietas son enriquecidas en elementos termolábiles para garantizar un desarrollo y crecimiento adecuado (Wostmann 1975).

Las dietas destinadas al consumo animal, por su propia composición, constituyen un medio de transmisión y cultivo de gérmenes específicamente patógenos o que sin serlo pueden originar alteraciones metabólicas y/o digestivas (Galvani *et al.* 1985). Previo al proceso de formación de pellets ya sea por presión en seco o mediante vapor de agua, las harinas se someten a un pre acondicionamiento con vapor a alta temperatura que oscila entre los 50-90 °C, reduciendo el *pool* bacteriano de la mezcla a niveles inferiores de 10³/g mínimo como valor permitido (Clarke *et al.* 1977, Eva y Riccetti 1983). La extrusión de *pellets* con vapor de agua a presión elevada (8-9 bars) puede reducir hasta 2-4 veces el contenido bacteriológico total (Furuta *et al.* 1984), pero aumenta el porcentaje de humedad relativa (%H.R) del pellet favoreciendo a largo plazo la formación de hongos, especialmente en el período estival. Sobre esta base y antes de su consumo se establece que una dieta adecuada debe tener unos niveles microbiológicos máximos (MAPA 1988). Tucker (1986) resume las posibles patologías en roedores asociadas a la contaminación microbiológica de la dieta.

Esto hace necesario que las dietas para animales gnotobióticos deban someterse a procesos de esterilización o similar, siendo más que aconsejable en animales SPF y CV de alta calidad (Coetes 1984), con el objeto de reducir riesgos potenciales o toxicidad de los animales (Strong 1974).

La exposición temporal a vapor a presión elevada o a radiaciones gamma son los métodos de esterilización más utilizados. La esterilización química mediante fumigación de óxido de etileno o similar ha sido definitivamente desechada por el potencial peligro de toxicidad durante su manipulación y la dificultad de eliminar los residuos de óxido de la dieta (Porter *et al.* 1965, Coetes y Gustafsson 1985).

El método de exposición a radiaciones ionizantes del tipo gamma utilizando como fuente ⁶⁰CO fue descrito por Ley *et al.* (1969). Se considera el más eficaz, debido al intenso poder de penetración de las radiaciones a 25-50 KGy - (t°)

normal- (Wise 1982, Farkas 1998) y a la escasa alteración que produce en el contenido nutritivo y estabilidad de las dietas (Cameron 1999), no observando alteraciones en su digestibilidad tanto en GF como CV (Andrieux *et al.* 1980). No obstante hay que considerar posibles cambios oxidativos, debido a la formación de radicales libres por la irradiación del contenido hídrico de las dietas, afectando al poder antioxidante de algunos ácidos grasos esenciales (Farag y El-Khawwas 1998).

Su mayor y casi único inconveniente es el alto coste del equipo y las estrictas medidas de seguridad que lo hacen impracticable. En la actualidad existen muy pocas instalaciones a nivel nacional, y algunas casas comerciales exportan lotes de dietas a precios superiores a los de una dieta normal (más del 50%), lo que puede hacer económicamente inviable su empleo en grandes cantidades. En el caso de la Unidad de Producción y Experimentación Animal (UPEA) de la Universidad de Granada unos 9600 kg/año, situación que se puede hacer extensible a muchas instalaciones de Universidades, Laboratorios y Centros de Investigación del País. Ante esta situación, el método probablemente más operativo sea el tratamiento térmico, utilizando los autoclaves-barrera de tipo industrial instalados en las diferentes instalaciones.

Se han propuesto diferentes periodos de exposición del material: 121°C durante 15-20' de esterilización, en aparatos estándar con vacío previo, y t° de 120-125°C por periodos de unos 30' (Thigpen *et al.* 1993). Se ha demostrado que la exposición a altas t° durante un corto espacio de t° es menos perjudicial para la integridad de los principios nutritivos que las t° bajas durante mayor t° (ver discusión), si bien el procedimiento exige tiempos cortos de obtención del nivel calorífico y de enfriamiento de la muestra. En este sentido la bibliografía consultada sólo aporta valores absolutos, sin indicar intervalos ni especificar el t° de secado necesario.

Partiendo de esta información el objetivo del estudio es la determinación tabulada de los valores ideales de esterilización o pasteurización de dietas normales destinadas a animales de laboratorio, mediante análisis integral de la calidad de algunos componentes diana y las posibles repercusiones nutritivas y sanitarias sobre los reactivos biológicos ensayados, estableciendo, unos intervalos de temperatura y tiempo de exposición dentro de los cuales se garantice la mayor pérdida de flora bacteriana y hongos con la menor pérdida posible de calidad nutritiva de las dietas en sentido amplio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción sujetos de estudio

La investigación planteada se realizó con una dieta de ingredientes naturales suministrada por B & K Universal de la fórmula rata-ratón (denominada rodent toxicology). La fórmula de la dieta se basa en las raciones nutritivas recomendadas para rata/ratón según el NRC (1978). Se fabrica mediante el método de peletización. Los lotes de dieta se mantienen en almacén ventilado, libre de artrópodos y otros vectores a $t^{\circ} < 25^{\circ}\text{C}$. Para el experimento se emplea un lote de pienso de la misma fecha de fabricación.

Como reactivo biológico se usan ratas de la cepa Wistar CFHB (IOPS AF/Han) producidas en la Unidad de Animales de Experimentación de la Universidad de Granada, mediante el sistema de cruce rotativo (POYLEY 1960, máxima consanguinidad del 1%), a partir de lotes de reproductores procedentes de Criffa, con categoría certificada de libres de gérmenes patógenos y mantenidos en condiciones de barrera Tipo-II para SPF (ILAR, USA).

Metodología de esterilización

Proceso de autoclavado. El pienso se dispone en capas de 2-3 cm en el interior de cestas de acero inoxidable 18/8 (600x170x630 mm) microperforadas (2 mm) dispuestas en dos niveles en el interior del autoclave. Este sistema permite, en condiciones normales de trabajo, la esterilización de 20-30 kg en cada sesión de autoclavado, distribuidos a razón de 5-7 kg de pienso por caja.

El equipo utilizado, en todos los casos, es un autoclave industrial (MOD.490 LE-2 Matachana) con capacidad interna de 300 litros. Dispone de un diagrama que refleja gráficamente las distintas fases del ciclo y termómetro digital indicador de la t° interna de la cámara. El equipo es calibrado y puesto a punto por la empresa Matachana antes de proceder a los ensayos. Antes de iniciar cada sesión de autoclavado de la dieta se hace un vacío del autoclave para eliminar la humedad interna de la cámara y el aire en bombas, a 121°C , durante 5' y 1' de secado.

Para cada sesión experimental de esterilización se realizan los siguientes pruebas: test de Bowie & Dick del autoclave indicador de la distribución correcta del vapor en toda la cámara interna. Tiras Arrow-chek : indicadoras del grado de penetración efectiva del vapor en el pienso. Thermolog-s: tiras calibradas equivalentes a un indicador biológico estándar. Método indirecto calculado mediante análisis de regresión

lineal entre la longitud de la tira que ha invertido el color y el % de esporas patógenas positivas que sobreviven a la acción térmica. Se disponen 8 tiras encima y entre el pienso. La inversión de color total de las tiras (64 mm, medidos con calibre digital de 0,01 mm), indica esterilización. En cada ensayo se mide la longitud de la tira que cambia de color. Test Biomonitor: método directo mediante un indicador biológico. Son ampollas conteniendo un medio de cultivo con *Bacillus steartotermophilus* (1.4×10^5) en crecimiento. Después de introducirse en el proceso de esterilización, se pasan a cultivar en estufa bacteriológica durante 24 horas. La inversión de color indica la muerte del *Bacillus* y por tanto una esterilización efectiva. Se disponen 4 ampollas en cada ensayo.

Para los experimentos, las cargas del pienso se realizan a razón de 20 kg distribuidos en 4 cestas de las descritas. El tratamiento térmico se lleva a cabo con diferentes valores de temperatura de pasteurización (105°C , 110°C y 115°C) y a intervalos de tiempo de 15, 20 y 30 minutos en cada una de estas temperaturas y diferentes valores de esterilización: 121°C (15', 20' y 30'), 124°C (9', 15' y 20') y 130°C (3' y 5').

Para cada caso se repite tres veces el mismo valor de t° y t° de exposición térmica ($n = 51 - 60 \text{ kg} \times 3 \times 17 \text{ muestras} = 1020 \text{ kg}$ -) y en todos se mantiene constante el tiempo de secado (25'), realizando todas las sesiones en el programa sólidos. Se comprueban en cada uno de ellos las gráficas de los ciclos y se contrasta el tiempo de cada ciclo mediante cronómetro.

Examen de composición de la dieta

Según Pearson (1985) un estudio en detalle de la composición de una dieta para consumo animal debe pasar por un análisis proximal detallado (Ph, humedad relativa de equilibrio, cenizas totales, proteína, fibra y grasa brutas, azúcar total, acidez grasa y almidón) y un estudio cuantitativo de sus componentes analíticos (minerales y vitaminas). Del conjunto de ellos se han seleccionado elementos claves de análisis, determinando los siguientes para cada muestra:

- Humedad: muestra (4-5 g) a t° de $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ en estufa hasta alcanzar un peso constante durante 18 horas. Después se enfría en desecador y se pesa. La operación se repite 2 horas después hasta obtener un peso constante.
- Proteína bruta: método de *Kjeldahl*, utilizando como factor de conversión 6,25.
- Extracto etéreo (grasa): digestión clorhídrica (hidrólisis con ClH) según el método de *Stold*.

- Cenizas (minerales totales): por calcinación de 1-2 g de muestra a 450 °C en horno eléctrico.
- Determinación de Retinol (vit. A) y a-Tocoferol (vit. E): muestras saponificadas y extraídas con hexano y preparación de soluciones patrón de ambos componentes, determinando la cantidad exacta en sus respectivas disoluciones patrón mediante las absorbancias ultravioleta (HPLC) medidas a 325 nm (Vit. A) y 292 nm (Vit. E) y los coeficientes de extinción específicos.

Todas las muestras (n= 51) antes del análisis se envasan en tres alícuotas de 20 g en bolsas individuales etiquetadas, al abrigo de la luz y a una temperatura de -20°C. Se hace un análisis proximal contrastado de la muestra control, en el Laboratorio Arbitral Agroalimentario (LAAM) como centro de referencia, comparando con los resultados. A estos análisis se añadió la determinación de aflotoxinas (ver resultados).

Determinación microbiológica

Parámetros a determinar. Aunque el MAPA (1988) establece las siguientes especificaciones bacteriológicas para productos destinados a la alimentación de animales: *Salmonella* (ausencia en 25 g), *Escherichia coli* (ausencia en 1 g) y *Estafilococos* patógenos (DNAasa+, coagulasa+ y termonucleasa+ - máximo 10 ufc/g-), hemos considerado, que estas especificaciones bacteriológicas son insuficientes para el nivel de calidad exigido a las dietas destinadas a animales de experimentación. Sobre esta base hemos utilizado como criterio la relación indicada por Saco Galvany *et al.* 1985:

- bacterias aeróbicas mesófilas <1x10⁶/g
- Coliformes <1x10⁷/g
- *Escherichia coli*: ausencia en 1 g
- Enterococos <1x10⁷/g
- *Salmonella*: ausencia en 25 g
- *Clostridium perfringens* <1x10⁴/g
- *Estafilococos* patógenos (DNAasa+, coagulasa+ y termonucleasa+), máx. 10 ufc/g
- Hongos y levaduras <1x10⁷/g

En este estudio no se realiza la analítica correspondiente a *Escherichia coli* y *Enterococos*, porque se considera que al investigar Coliformes (*Enterobacteriaceas* lactosa+) y *Salmonelas* (*Enterobacteriaceas* lactosa-), se cubre por completo la detección de gérmenes fecales.

Técnicas empleadas. Hacemos una revisión y aplicación de las técnicas y medios de cultivo, basados en Cottral (1978), Kunstyr (1992) y Pascual Anderson (1992). Una vez efectuados los ensayos de tratamientos térmicos, se hace una curva posttratamiento de pasteurización y esterilización, para determinación del día más idóneo para la realización de las pruebas microbiológicas desde el momento en que el pienso se autoclava tomando como día 0 el de tratamiento hasta el día 3. Del resultado se obtiene el día idóneo para realizar la determinación microbiológica.

Análisis sobre el reactivo biológico

Realizadas las pruebas de tratamiento térmico y los análisis correspondientes a la calidad nutritiva y pérdida de carga microbiológica, se seleccionan al menos dos lotes de pienso (uno pasteurizado y uno esterilizado) entre los diferentes valores estudiados para analizar parámetros claves de calidad asociados a su consumo, utilizando ratas y comparando con la dieta control (sin tratar térmicamente).

Calidad nutritiva del contenido proteínico

Se realiza en 3 grupos de ratas ♂♂ (n= 30, 250 + 6 g) alojadas en jaulas metabólicas individuales situadas en una habitación termorregulada (22±2 °C, 50±12 %HR) y con fotoperíodo (12L/12O). Consumen la dieta molida (dieta control, pasteurizada y esterilizada; n= 10 respectivamente) y agua (*ad libitum*) durante el periodo experimental de 13 días, los tres primeros de adaptación a la dieta y a las condiciones experimentales y en los diez siguientes se recogen, por separado, heces y orina para su posterior análisis cada 24 horas; así mismo, durante este periodo se controla la ingesta de alimento, partiendo de los valores normales de consumo de pienso (15-20 g/día) se determina el consumo de g/día y el incremento de peso comparado de cada lote y el peso del animal.

Obtenemos un total de 60 muestras para análisis de orina y heces. La orina, acidificada con sulfúrico y con un indicador de pH se lleva a un volumen conocido y se conserva a 4°C en botes cerrados y etiquetados. Las heces se conservan en congelador a -20°C en bolsas estériles precintadas hasta su análisis

Se calculan los siguientes índices biológicos:

- **Coefficiente de digestibilidad Aparente.** $CDA = I - F / I \times 100$. Relación porcentual entre la cantidad de N absorbida respecto a la ingerida, sin tener en cuenta las pérdidas endógenas. I (N ingerido), F (N excretado).

- *Balance o retención.* $B = I - (F + U)$. Diferencia entre N ingerido y el N excretado en orina, siendo U la excreción urinaria de nitrógeno
- $R/A = I - (F + U) / I - F \times 100$. Expresa el porcentaje de nitrógeno retenido respecto al absorbido. La cantidad retenida se calcula por diferencia entre la cantidad absorbida y la excretada por orina.
- $R/I = I - (F + U) / I \times 100$. Expresa el porcentaje de retenido respecto al ingerido y, aritméticamente es el producto del R/A por el CDA

Efecto de la dieta en la microbiota fecal

A partir del análisis de heces frescas, se determina la presencia/ausencia de microorganismos indicadores de la flora intestinal. Se cuantifica en $n=20$ ratas ♂♂ (200+20 g), mantenidas en jaulas tipo-IV, en grupos de 5 (dos lotes control) durante 30 días, alimentadas 15 días con dieta normal y durante los 15 siguientes con la dieta pasteurizada y esterilizada respectivamente. Durante 30 días se procede a la toma de muestras (día 0, 15 y 30 post-tratamiento - $n=45$ heces/ lote-). Con posterioridad se hace una homogeneización de cada muestra de heces y se analiza la carga microbiana de aerobios, anaerobios totales y *Escherichia coli* respecto al total de enterobacterias.

Obtención y procesamiento de las muestras: las heces se acumulan directamente sobre placas petri estériles, se pesan, se homogeneizan en 10 ml de solución salina estéril y se practican diluciones que se siembra en placas de medios selectivos sólidos. Los recuentos de bacterias aerobias totales se realizan en medio de CLED; enterobacterias en MacConkey y en Tergitol 7 suplementado con TTC; enterococos en KF; lactobacilos en Rogosa SL; anaerobios y microaerófilos en medio de *Brewer* con atmósfera de anaerobiosis. Medios preparados como se indica en DIFCO (1984).

Análisis estadístico

En todos los casos se aporta la $x \pm DS$, máximo (max.), valor mínimo (mín) y coeficiente de variación, sólo se aceptan diferencias significativas (d.s.) con niveles de probabilidad $p < 0.05$, en todos los casos se indica el valor de p. Para tamaños de muestra $n < 10$ se emplean tests no paramétricos. Todas las muestras se han determinado por triplicado. Se hace análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el test de Duncan/Kruskal-Wallis, para las diferentes temperaturas y para una misma temperatura entre tiempos.

RESULTADOS

Procedimientos relacionados con el tratamiento térmico

En la **Tabla 1.** se resumen los datos correspondientes a los controles de esterilización para los diferentes valores de

°C	T°EST1	T°EST2	T°SEC1	T°SEC2	CHKT	TH0	% ES
105	15	15.4	20	19.8	0.25	0	100
105	20	20.7	20	20	0.50	0	100
105	30	30.6	20	19.5	0.75	0	100
110	15	15.4	20	20	0.75	21.4	>21
110	20	20	20	20	1	29.5	<21
110	30	30.2	20	19.8	1	38,7	<15
115	15	14.8	20	20	0.75	35,4	15
115	20	20	20	19.6	2	36,1	15
115	30	30.5	20	20	2	46,4	<15
121	15	15.6	20	20	2	49.2	0
121	20	19.7	20	20.3	2	56.6	0
121	30	30.8	20	20.5	2	63.5	0
124	9	9.1	20	20	2	63.8	0
124	15	15.2	20	20	2	63.7	0
124	20	20.4	20	20	2	63.7	0
130	3	3.1	20	20.3	2	64	0
130	5	5.3	20	20	2	64	0

Tabla 1.

Controles del tratamiento térmico de las dietas a diferentes temperaturas.

En negrita valor a partir del cual la esterilización se puede considerar efectiva.

T°est1= Tiempo de esterilización indicado en autoclave.
 T°est2= Tiempo de esterilización cronometrado
 T°sec1= Tiempo de secado indicado en autoclave.
 T°sec2= Tiempo de secado cronometrado
 Test Arrow-Chek: CHK1 = CHK1+ CHK2 2(positivo) 0 (negativo)
 Thermolog-s: TH0 = TH1 a TH8 en mm (n= 8 tiras)
 % es = % de esporas de *B. Stearothermophilus* que sobreviven

temperatura y tiempo, en todas las sesiones de autoclave el test Bowie & Dick fue positivo. Igualmente no se observan d.s. ($\ll 10$ segundos) entre los tiempos marcados por el equipo (reloj digital) y los cronometrados en cada ensayo. Las gráficas de t^a y %HR fueron en todos los casos correctas indicando las temperaturas pedidas al equipo con indicación del prevacío y los diferentes vacíos con sus presiones diferenciales adecuadas.

El método de las cajas de acero inoxidable para la esterilización de piensos, permite una distribución homogénea del vapor entre los pellets, prueba de ello son los resultados de las tiras Arrow-Chex, con 1.5-2 de inversión en el 88% de los casos ($n=17$). Respecto a los indicadores biológicos de esterilización, los datos marcan claramente el paso de pasteurización ($105^{\circ}\text{C} - 121^{\circ}\text{C}$, $15'$) a esterilización (desde 121°C , $20'$) que es total en base a la longitud de viraje de las tiras de thermolog (50 mm a 121°C y $15'$) y al test biomonitor que vira de color a partir de los 121°C y $15'$ (2:4 ampollas) con un 100% a igual T^a y $20'$ de tratamiento térmico (ver áreas en negra en **Tab .1.** y **Fig .1.**). Colateralmente se compara entre la eficacia del tratamiento térmico del pienso en sacos y el dispuesto en cajas de acero inoxidable. Una vez dispuestos los sacos en el autoclave, se introducen tiras de thermolog en el interior de cada uno de ellos. Se realizaron dos pruebas en sacos y dos en cajas a 121°C , $20'$. Las tiras de thermolog ($n=16$ en cada caso), dieron valores de $4.3\pm 0.5\text{ cm}$ en sacos, frente a $5.6\pm 0.4\text{ cm}$ en cajas ($p < 0.001$, t-student), para igual valores de t^a y t^p . El valor del Chk (test de penetración del vapor), fue de $0.25-0.75$ para sacos y de 2 para cajas

Examen de composición de la dieta

Análisis proximal. Previo a los controles propios se solicita un análisis proximal a terceros (LAAM) para la muestra control, comparando con los marcados en etiqueta y los preliminares realizados por nosotros. Estos datos se resumen en la Tabla .2., no observando diferencias significativas. Aunque los valores oscilan en el caso de las cenizas en

tre 4.0 y 5.3 y la proteína con diferencias de hasta 2.5 g ($16.0-18.5\text{ g/kg}$), estos se sitúan entre los intervalos mínimos aceptados por el NRC (1995). Simultáneamente se pide una análisis de aflatoxinas (B1, B2, G1, G2) para la dieta control correspondiente a un stock de 100 kg del que se obtienen las muestras experimentales, dando negativo para $n=5$ muestras tomadas al azar.

Los datos comparados para el análisis proximal de la muestra control y las tratadas térmicamente se resumen en la **Tabla .3.** y **Fig .2.** Los resultados de grasa y proteína no se incluyen al permanecer prácticamente inalterables ambos parámetros (diferencias inferiores a 0.1).

El valor medio de contenido en proteína en el pienso control es de 18.5 ± 0.05 . Tras el tratamiento térmico los valores oscilan entre 17.3 ± 0.04 y 18.5 ± 0.1 . Para la temperatura máxima (130°C) y tiempo máximo ($5'$) el valor es de 18.4 ± 0.03 lo que supone una pérdida estimada de sólo el 0.54% (n.s.).

La grasa oscila dentro de los valores que recoge el etiquetado del pienso y los obtenidos por nosotros, con valores medios de 2.9 ± 0.15 , no observándose modificaciones ni con la t^a de tratamiento ni, para cada t^p para los diferentes tiempos. En igual situación se encuentran la sustancia seca (humedad) y las cenizas, estando dentro de los valores esperados.

Constituyentes analíticos (vitaminas). En el caso de la Vit. A se sitúa en valores comprendidos entre 1.17 ± 0.24 y $1.90 \pm 0.69\text{ mg}$ de retinol por kg de pienso 1. No se observan cambios significativos entre los valores del grupo control (1.50 ± 0.15) y los de pienso sometidos a calentamiento. Comparando entre el valor del pienso control (1.32 mg/kg) y el tratado a mayor temperatura - 130°C , $5'$ (1.60 mg/kg) la diferencias se deben a los tamaños de muestra y a las variaciones intramuestra en el análisis por HPLC (ver Anexo.2.). Con un incremento en el valor de n en cada caso se reducirían las diferencias de forma eviden-

	LAAM(0±DS)	CONTROL(0±DS)	ETIQUETA
Humedad (%)	13.19±0.06	12.08±0.08	NO
Ceniza (g/kg)	3.97±0.09	4.25±0.04	5.3
Fibra bruta (g/kg)	2.59±0.18	3.00±0.00	3.5
Grasa bruta (g/kg)	2.94±0.04	2.90±0.00	2.8
Proteína bruta (g/kg)	15.75±0.1	18.5±0.05	16.2

Tabla 2.

Análisis proximal de la dieta control (sin tratar) previos a las sesiones de tratamientos térmicos. Se compara entre los valores obtenidos (control), análisis del LAAM y los datos aportados por la etiqueta del pienso analizado.

Figura 1.

Valores de THx (Thermolog-S) y CHKt (Tiras Arrow-Check) a las diferentes temperaturas de tratamiento térmico, los puntos gruesos en cada caso indican el paso de pasteurización a esterilización.

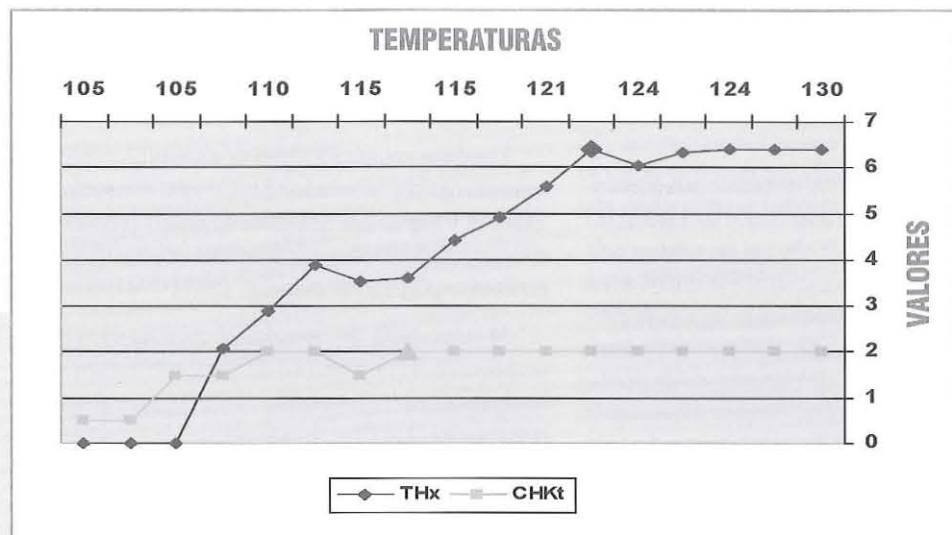
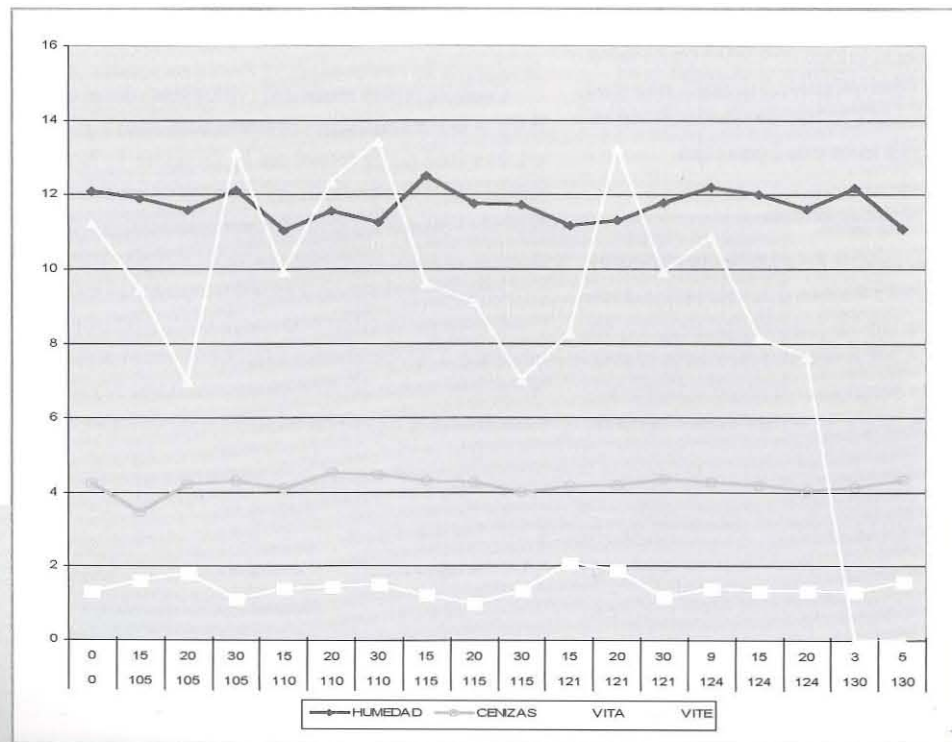


Figura 2.

Variaciones en la composición de la dieta (análisis proximal y vitaminas) tratada térmicamente a diferentes valores de temperatura.



te. El contenido en Vit. E (a-tocoferol), expresado en mg por kg de pienso tiene unos valores de 11.23 ± 2.52 sensiblemente inferiores a los marcados en el etiquetado (24 mg/kg). Esta vitamina se ve afectada por el tratamiento térmico, a partir de los 130 °C tanto durante 3' como en 5', observando un descenso de su contenido significativo ($p < 0.01$) (ver **Tab. .3** y **Fig .2.**).

En los valores a partir de los cuales podemos hablar de esterilización efectiva - 121°C y 20 minutos- (ver Tab. 1) existe una pérdida del 12% en Vit. E respecto al contenido total de la dieta control. Los valores son apreciables a 124°C 15' ($8,14 \pm 1,6$) y 20' ($7,66 \pm 2,31$) con pérdidas del 27.5% y 32% respectivamente, pero con una reducción significativa ($p < 0.01$) a partir de los 130°C tanto a 3' como a 5' (reducción máxima del 72 % del contenido en Vit. E). Se aprecia una reducción similar y paralela de la Vit. E, expresada en relación a la sustancia seca (VESS).

Determinación microbiológica

En base a los resultados obtenidos al autoclavar las muestras (ver **Tab. .2.**) y las variaciones en los constituyentes analíticos (ver **Tab. .3**), se opta por iniciar los controles microbiológicos de las muestras de pienso tratadas a las temperaturas más bajas, desde los 105°C hasta los 120°C. Los resultados se exponen en la **Tab. .4** con indicación de la tasa mínima aceptada para los diferentes microorganismos, expresada en número de unidades formadoras de colonias (ufc) por gramo de dieta. En el caso de la muestra control aparecen valores medios de 9.105 ufc/g para aerobios mesófilos inferior al máximo aceptado (MAPA 1988), pero próximo a este , Clostridium con casi el triple (30.3 ufc/g) frente al mínimo aceptado (10 ufc) y casi el triple (290 ufc) del mínimo permitido (100 ufc) para el caso de las levaduras en general. No se detectan colonias en las placas sembradas para Coliformes, Salmonella y Estafilococos.

Tabla 3.

*Análisis proximal y constituyentes analíticos de la dieta control y tratada térmicamente a diferentes valores de temperatura. Los resultados de grasa y proteína no se incluyen dado la ausencia de variaciones. (ver texto). Con * valores significativos respecto al pienso control ($p < 0.005$). DS (Desviación Estándar (no se especifica si es menor de 0,01). VITA (Vitamina A, mg/Kg -retinol-), VITASS (expresada en relación a la sustancia seca), VITE (Vitamina E, mg/Kg, alfa-tocoferol) VITESS (VITE expresada en relación a la sustancia seca).*

DIETA	HUMEDAD (%)	CENIZAS (%)	VITA	VITASS	VITE	VITESS
Control	12.08±0.08	4.25±0.04	1.32±0.14	1.5±0.15	11.23±2.52	12.77±2.86
105°C/15'	11.89±0.03	3.47±0.74	1.62±0.22	1.84±0.25	9.43±0.70	10.7±0.79
105°C/20'	11.58±0.04	4.21±0.02	1.81±0.13	2.04±0.14	6.94±1.49	7.84±1.68
105°C/30'	12.12	4.29	1.11±0.1	1.38	13.16±1.06	16.18±0.02
110°C/15'	11.04	4.1±0.04	1.4±0.09	1,57±0.11	9.9±1.74	11.12±0.83
110°C/20'	11.57	4.53	1.46±0.03	1.68	12.33±1.24	15.35
110°C/30'	11.24	4.46±0.04	1.52±0.15	1.71±0.17	13.44±0.72	15.14±0.82
115°C/15'	12.52±0.02	4.3±0.00	1.24±0.00	1.24±0.00	9.6±0.00	10.97±0.01
115°C/20'	11.75±0.00	4.26±0.00	1	1	9.1±0.27	9,18±0,23
115°C/30'	11.73±0.04	3.98±0.09	1.35±0.23	1.53±0.26	7.01±0.03	7.06±0.02
121°C/15'	11.18±0.15	4.16±0.02	2.1	2.37	8.27±1.77	9.31±1.23
121°C/20'	11.3±0.06	4.19	1.9±0.69	2.14±0.78	13.23±1.51	14.92±1.71
121°C/30'	11.77±0.04	4.35±0.04	1.17±0.24	1.32±0.28	9.9±1.77	17.3±2.01
124°C/9'	12.2±0.00	4.28	1.39±0.10	1.58±0.12	10.85±1.32	12.36±1.51
124°C/15'	12.02	4.19±0.01	1.34±0.17	1.52±0.19	8.14±1.6	9.25±1.82
124°C/20'	11.61±0.10	4.04	1.34±0.12	1.52±0.14	7.66±2.31	7.66±2.31
130°C/3'	12.18±0.03	4.12±0.03	1.31±0.10	1.49±0.12	*4.34±0.49	*4.94±0.56
130°C/5'	11.08±0.16	4.32±0.00	1.6±0.33	1.79±0.38	*3.35±0.41	*3.76±0.46

En todos los casos el tratamiento por calor desde los 105°C hasta los 120°C es suficiente como para eliminar todo el espectro de la flora microbiológica buscada. Con el objeto de determinar el tiempo en el que se mantiene exento de carga microbiológica destruida térmicamente después de esterilizarlo, se realizaron análisis de mohos-levaduras en intervalos de 2 días, hasta un máximo de 6 en muestras patrón (115°C, 15'), manteniendo estables las condiciones ambientales del almacén de «estériles» (19-22°C y 38-45 %HR). En todos los casos las placas dieron negativo.

Análisis sobre el reactivo biológico

Una vez realizados los análisis de las diferentes partidas entre 105°C y 130°C, los efectos de las dietas sobre el reactivo biológico se ensayan con dos lotes de dieta pasteurizada (115°C) de valor conservativo y esterilizada (121°C) no conservativo, analizando diferentes bioindicadores de la calidad de la dieta

Calidad nutritiva del contenido proteínico

En la **Tab. .5.** se comparan los datos para las variables consideradas en relación al aprovechamiento del nitrógeno (ingerido, consumido y excretado). Se observan d.s. entre la dieta control y la sometida a 121°C, sobre todo en la utilización metabólica, como ponen de manifiesto las mayo-

res excreciones urinarias de N (balance o retención -B-) en los animales alimentados con dieta esterilizada (reducción del 36%), mientras que las excreciones fecales (Coeficiente de Digestibilidad Aparente, CDA) son comparativamente inferiores con reducción del 17% en la capacidad de retención de N.

Efecto de la dieta en la microbiota fecal

Para ambas dietas tratadas térmicamente existe una reducción significativa del contenido de la microbiota fecal, respecto a la dieta normal, de hasta un 76% en aerobios y de un 90% en E. coli. La ratas son alimentadas durante 10 días con dieta normal y después se alimentan con dieta pasteurizada. Igual procedimiento se sigue en otro lote de ratas pero alimentadas en la segunda fase con dieta esterilizada. Los datos se resumen en la **Tab. .6.** entre las dietas tratadas no se observan diferencias en el número de ufc.

Índice de consumo

Los datos agrupados para los 3 lotes se sitúan dentro de los valores normales para ratas en crecimiento. (ver **Tab 7.A.**). No se observa d.s. entre los 3 lotes de ratas ni para el consumo de pienso ($P<0.005$, F), ni para el incremento de peso durante el período de 10 días ($P<0.005$,F) (ver **Tab. 7.B.**). Existe un consumo global medio de 22.37 ± 2.5 g/día,

Tabla.4.

Carga microbiológica de la dieta control y tratadas térmicamente. TMA (Tasa Máxima Aceptada), MC (Muestra Control), MTT (Muestra Tratada Térmicamente, a 105, 110, 115 y 120°C, a 15' de esterilización).

	AEROBIOS MESÓFILOS	COLIFORMES	SALMONELA	CLOSTRIDIUM	ESTAFILOCOCOS	MOHOS LEVADURAS
TMA	106-107 ufc/g	100 ufc/g	ausencia/25g	10 ufc/g	ausencia/g	100 ufc/g
0+ DS	9. 105	ausencia	ausencia	30,3±1,65		290±162,3
Intervalo	24.105 -2.10 4	ausencia	ausencia	32.5- 25	ausencia	515-115
MTT*	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia

Tabla.5.

*Determinación de la calidad nutritiva del contenido proteínico. Datos expresados en $\bar{X}\pm DS$ (n=10 por lote); * d.s. entre grupos ($p<. 01$).*

GRUPO	CDA	BALANCE (B)	R/A %	R/I %
Control	80.45±1.82	335.45±23.22	70.62±2.18	57.70±2.85
Pasteurización (115°/30')	78.14±0.64	326.30±15.37	68.43±2.23	53.46±1.74
Esterilización (121°/30')	74.39±0.88*	214.76±16.97*	54.44±2.29*	40.73±1.87*

dentro del intervalo normal establecido para la especie (15-20 g/día). Igual ocurre para cada tipo de dieta tratada térmicamente por separado (ver **Tab. 7.B**).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Referente a la carga microbiológica

A tenor de los resultados, el tratamiento térmico está ampliamente justificado. Aunque el pienso control puede ser considerado de buena calidad, si nos basamos en los mínimos recomendados (MAPA 1988) y en la ausencia de Coliformes, Salmonella y Estafilococos, la presencia de Clostridium y levaduras debe ser evitada en la alimentación de SPF y CV de alta calidad.

Tucker (1986) resume las posibles patologías en roedores asociadas a la carga microbiológica de la dieta. Hongos y levaduras producen alteraciones metabólicas y estrogénicas debido a los metabolitos fúngicos formados por sus micotoxinas; junto con los agentes no patógenos aerobios (Coliformes y Enterococos) indican la humedad final del producto obtenido o la conservación en almacenes sin protección, por un período de tiempo prolongado o en condiciones de temperatura (> 35°C) y humedad inadecuada. Agentes patógenos de primer orden son Salmonella, E. coli, Estafilococos y Clostridium perfringens dependiendo de sus serotipos (Benacerraf et al 1959, Ahlestedt 1981).

En las partidas examinadas, destaca la ausencia de aflotoxinas de alto contenido tóxico en condiciones normales.

Tabla.6.

Comparación de carga microbiológica en heces (bacterias/g de heces) de ratas alimentadas con dieta normal y dietas tratadas térmicamente. * Respecto al total de enterobacterias

PARÁMETROS	DIETA CONTROL	DIETA PASTEURIZADA	DIETA CONTROL	DIETA ESTERILIZADA
Aerobias totales	40x108	8.4x108	30.8x108	10.9x108
Escherichia coli*	100x108	7.7x108	38x108	11x108

Tabla.7.

Consumo de alimento comparado en tres lotes de ratas (n=10 ratas/lote), alimentadas ad libitum durante 10 días con dietas control, pasteurizada (110°C, 20') y esterilizada (120°C, 20').

.A.				
PARÁMETROS	N	0±DS	Mínimo	Máximo
Peso inicial (g)	30	135.4±17.3	106	169
Peso final (g)	30	215.5±19.75	180	262
Incremento peso total (g)	30	80.2±9.88	60	97
Incremento peso (g/día)	30	8.2±0.98	6	9.7
Peso inicial pienso (g)	30	500	-	-
Peso pienso consumido final	30	276.3±24.6	235	322
Consumo de pienso (g/día)	30	22.37±2.5	17.8	26.5
.B.				
PARÁMETROS	Dieta control x± DS	Dieta Pasteurizada x± DS	Dieta Esterilizada x± DS	
Peso inicial (g)	133.3±18.6	139.8±19.40	133.2±14.50	
Peso final (g)	210.7±16.1	223±26.71	212.7±13.67	
Incremento peso total (g)	77.8±10.9	83.2±1.21	79.5±6.50	
Incremento peso (g/día)	7.78±1.1	8.32±1.16	7.95±0.65	
Consumo de alimento (g/día)	22.2±2.2	23.5±2.76	21.47±2.13	

No ocurre igual para piensos más contaminados y con un nivel de infestación de mohos y levaduras alto, con formas esporuladas típicas de las harinas especialmente de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor* y *Rhizopus* generadores de micotoxinas. Aunque las harinas utilizadas para la fabricación del pienso tengan un bajo contenido en agua, dificultando el crecimiento microbiano, posteriores condiciones de almacenamiento (locales húmedos, componentes que sufren condensación de humedad por fuertes variaciones en temperatura, etc) pueden contribuir a que la *actividad del agua* (*aw*) supere valores del 0.70 posibilitando el enmohecimiento del producto y la producción de micotoxinas (Pascual 1992). Las consecuencias son infecciones colaterales y reacciones alérgicas a los antígenos fúngicos que pueden alterar sustancialmente resultados inmunológicos, fisiológicos o metabólicos esperados en el modelo experimental.

Otro elemento importante de contaminación es *Cl. perfringens* productor de toxiinfecciones alimenticias (tipo A) y enteritis necrótica (tipo B) producida por enterotoxinas citoplasmáticas de los gérmenes en esporulación, con la circunstancia añadida de que las esporas del tipo A son muy resistentes al calor. La tolerancia máxima se ha establecido en 102/g de producto (Saco Galvany et al. 1985) y su presencia indica fermentaciones anaerobias intensas por conservación de la materia prima en silos de gran tamaño o por posteriores humidificaciones indeseables del pienso.

Según el NRC (1978), una esterilización eficiente por vapor, exige de un autoclavado con presiones de vapor superiores a 1 atm. y para que sea completa, los piensos deben someterse a temperaturas superiores a los 120°C, por otra parte Eva y Rickett (1983) mantienen que la pasteurización¹ es capaz de destruir los organismos vegetativos y huevos de parásitos pero no las esporas y alguna flora bacteriana. Nuestros datos no coinciden, observando que a partir de los 105°C se elimina toda la carga microbiológica, incluidos *Clostridium* y posibles formas esporuladas de hongos y levaduras. El factor que puede contribuir a estos resultados puede ser el sistema escogido de extender los lotes de pienso en capas inferiores a 3 cm de espesor, a fin de facilitar una distribución homogénea del calor.

En este sentido la destrucción de los contaminantes microbianos se produce cuando es liberado el calor latente por condensación, después del vacío, garantizando el mantenimiento de la *t*^a precisa durante el *t*^o preestablecido, ya que

es esencial la penetración completa del vapor en los pellets. Esto puede estar facilitado por el sistema de cesta perforada utilizado para disponer los 25 kg tratados en cada sesión de esterilización. Tal y como se ha demostrado, la esterilización del pienso en el interior de los sacos microperforados de unos 13 kg no garantiza la distribución homogénea del vapor.

Otro aspecto es que durante el secado (recuperación de valores normales de humedad del pienso), los pellets al estar más comprimidos en el interior del saco se apelmazan y compactan. Esto se acentúa después de sacarlos del autoclave y dejar que se enfríen. En las cajas con un simple movimiento y sacudida con las manos (con guantes), después de enfriarse un poco, se despegan y quedan bastante sueltos. Otro tema que puede ser preocupante (B&K, comunicación personal) es el de los puntos de cola de las hojas de papel que forman el saco. Estos pegamentos al derretirse por la temperatura elevada liberan monómeros de carácter tóxico que pueden impregnar al pienso (Pérez et al., 1998).

Después de probar tolvas y otros métodos para almacenar la dieta tratada, hemos optado por almacenarlos antes de su consumo en los mismos sacos que los contienen, que esterilizamos aparte y antes de introducirlos en la barrera.

La reducción del tiempo de secado a 25 minutos nos garantiza un adecuado secado (ver valores de %HR) y a la vez permite tratar hasta 30-40 kg de pienso en una hora, desde la introducción del material, hasta su extracción por el pasillo limpio. Para prevenir posible contaminaciones, en el sitio donde se almacenen las dietas autoclavadas se deben evitar altas temperaturas (< 35°C), y ambiente húmedo (< 60%) y dadas las vías de contaminación (telúrica, fecal, etc), el pienso debe ser manipulado con guantes. Por otra parte para mayor seguridad se debe tratar térmicamente el pienso de consumo inmediato (24-48 horas).

Consideraciones referentes a los resultados analíticos del pienso

Los resultados comparados de la analítica del pienso sobre los datos del etiquetado, entre los diferentes laboratorios, ponen en evidencia la fiabilidad de los métodos utilizados en este estudio, y refuerza la necesidad de los controles comparados para contrastarlos entre sí. Estos análisis deben realizarse de forma periódica y como una rutina más de la calidad de barrera. Estos análisis deberían hacerse inmediatamente en el caso de que se observen en la colonia animal o

¹ para su expresión en UI de Vit. A por kg de pienso habría que multiplicar por 103 y dividir por 0.3

en el grupo experimental alguna alteración en la apariencia externa, los valores normales de la relación edad/peso, alteraciones en la fertilidad o en la tasa reproductiva de la población, que puedan estar relacionados con deficiencias claves de tipo proteínico, vitamínico u otras. Es especialmente importante si la dieta se utiliza como control en estudios de nutrición o similar o se modifica en algún ingrediente mediante la adición y para generar dietas equilibradas. Los costes suelen ser mínimos en comparación a las garantías que proporcionan. Se deben hacer al menos 4 determinaciones, y verificando si los valores están dentro de los intervalos del etiquetado.

El análisis proximal de los componentes de las dietas tratadas en el intervalo de 105°C a 130°C revela diferentes datos. En el caso de la proteína, su composición cuantitativa en la dieta control es superior a los mínimos recomendados para este macronutriente en rata y ratón (ver NCR 1978 y 1995). El contenido, para todas las temperaturas ensayadas, se mantiene constante, situación normal dado que la esterilización no afecta a la estabilidad de la proteína cruda (Coetes 1984), aunque puede alterar sustancialmente su calidad nutritiva (ver más adelante).

Tampoco, se observa variaciones significativas en el contenido en grasa, aunque no se pueden descartar posibles reducciones en la digestibilidad de la grasa cruda detectada por Yoshida y Shinoda (1982) en dietas autoclavadas, asociadas a influencias de la microflora intestinal en GF.

El contenido total en minerales, según el contenido en cenizas (método indirecto) no se ve afectado por el calor. Habría que determinar el comportamiento individual de algunos minerales, sobre todo las posibles pérdidas de algunos de ellos por arrastre del vapor de agua, durante el proceso de esterilización y posibles alteraciones colaterales del pH de la dieta que pueden condicionar la asimilación global de algunos de ellos -absorción y retención- y afectar a la pérdida adicional de nutrientes (Coetes et al 1969, Smith y Soares 1984). Otro efecto colateral sobre los minerales es el "efecto de bronceado" (Maillard), como consecuencia de la reacción entre los carbohidratos y los grupo amino de los aminoácidos. Andrioux et al (1980) observan que esta reacción induce a diarreas y a una reducción significativa de la retención de Ca, P, Mg y Cu en animales GF, si bien en animales CV no se aprecian estas reducciones.

Finalmente la humedad no sufre cambios significativos en el proceso de tratamiento por calor. Esto pone en evidencia que el autoclave hace correctamente los prevacios y el

secado final del producto. Por otra parte una reducción en el %HR puede afectar al contenido de otros nutrientes como es el caso de los contenidos de tiamina, piridoxina y pantotenoato cálcico detectados por Zimmerman y Wostmann (1963) en 3 tipos diferentes de dietas para rata, autoclavadas a 123°C durante 25', indicando pérdidas superiores al 60% en el contenido de estas sustancias.

En relación a la composición cuantitativa de las vitaminas A y E, los valores obtenidos se sitúan por debajo de los que aparecen en el etiquetado. Este hecho ya comentado con los responsables técnicos de la fabricación de las dietas, no es atribuible a la forma física de las vitaminas ni tampoco al método analítico similar al aportado por la empresa suministradora de la mezcla vitamínica (Rhone-Poulanc Animal Nutrition AE 801/01, September 1993). Una posible explicación sería una escasa homogeneización del corrector vitamínico dentro de la mezcla base del pienso aunque no podemos atribuirlo sólo a esta posible causa. La empresa productora del pienso realiza cada 6 meses (según normas ISO9001, PRO-013) verificaciones de la homogeneidad de la mezcla, utilizando como elemento clave los cloruros mediante la técnica NIR (espectroscopia de reflectancia en infrarrojo cercano). Si el Coeficiente de Variación es superior al 10% se consideran no homogéneas e incrementan el nivel de mezclado hasta conseguir valores inferiores. Habría que poner más énfasis en esta analítica para el pienso de animales de experimentación. Otro tema que se hace indispensable para garantizar la calidad de las dietas es su calibración mediante infrarrojos por lo menos para proteína, grasa, hidratos de carbono, humedad y algún mineral diana como el Ca. Esto permitiría validar la composición de las diferentes partidas producidas, garantizando que la composición indicada en la etiqueta ha sido contrastada experimentalmente.

Las vitaminas son el factor clave dada su alta sensibilidad a la temperatura. Según Coetes (1982) la esterilización por calor produce una severa afectación de las vitaminas termolábiles en especial del complejo B, B1, B6, ácido pantoténico, Vit. A, C y ácido fólico. A 121°C durante 25', la tiamina se destruye por completo y más del 50% del contenido de la A (retinol) y E (a-tocoferol) (Yamanaka et al 1973). Los resultados obtenidos por nosotros, difieren sustancialmente para ambas vitaminas ensayadas. Comparando con Yamanaka et al (1973) hasta los 130°C no existe d.s. en el contenido de Vit. E entre el lote control y el esterilizado, no apreciando reducciones cuantitativas hasta los 124°C. Mientras que en la Vit. A analizada por HPLC no se obser-

van d.s. a las temperaturas de 124°C y 130°C con independencia del tiempo de esterilización.

Este hecho diferencial se puede deber a las nuevas formas de encapsulado del complejo vitamínico AD3 desarrollado en los últimos diez años. El preparado de vitamina A - acetato de retinol - (ROVIMIX A-500 Type P, ROCHE,) utilizado en la formulación del pienso investigado, parece ser muy resistente al tratamiento térmico húmedo (autoclavado). La mayor resistencia al calor se relaciona con la nueva tecnología de adición de los correctores, especialmente al encapsulado de ambas vitaminas y el antioxidante en una matriz de gelatina, glicerina y carbohidratos, estabilizadas mediante etoxiquina y envuelta en una cubierta de almidón de maíz. La vit. E, en forma de adsorbato (ROVIMIX E-50) no parece poseer las propiedades de la forma de presentación de la A, ya que a partir de 124°C se comienza a detectar un descenso de esta, que se hace significativo a los 130°C. Valores similares obtienen Isler et al (1999).

Consideraciones sobre el modelo experimental

Referente a la asimilación de nitrógeno y calidad nutritiva de la proteína. En sí mismo es evidente que un proceso de esta naturaleza, diseñado para la aniquilación de microorganismos, pueda originar alguna alteración de los componentes de la dieta (FORD 1983), que si bien no afectan al contenido de proteína cruda sí a la Digestibilidad Efectiva (DE), Valor Biológico (VB) y Proteína Neta Utilizada (PNU=TDxBV) (Schoen y Hiller 1971), debido a una sensible reducción en la disponibilidad de los aminoácidos metionina y lisina (Yamanaka et al 1973, Yoshida y Shinoda 1982). Las pérdidas en PNU oscilan entre un 15-20% a temperaturas inferiores a los 121°C, siendo de hasta el 40% entre los 130-133°C (Eggum 1969). Se observa que a 130-135°C durante poco tiempo de exposición (3') los valores son similares (13% de pérdida del NPU) (Ford 1976).

Nuestros datos, para el Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA), equivalente al PNU, se sitúan dentro del intervalo citado (17%), en el caso del lote de 121°/20', afectando tanto la utilización digestiva como metabólica de la proteína de la dieta. Las diferencias son más importantes en la utilización metabólica, con d.s. para la excreción urinaria de nitrógeno en este grupo, mientras que las fecales son algo inferiores. En el caso del lote tratado a 115°C no se observan d.s. con el grupo control.

Resumiendo, el tratamiento térmico genera cambios en la proteína, afectando a su absorción y posterior utilización

por los distintos tejidos, fenómeno que podría estar relacionado con el efecto de pardeamiento de los pellets relacionado con la formación de compuestos del citado efecto de bronceado (reacción de Miellard). Esta reacción afecta a la biodisponibilidad de distintos nutrientes entre ellos la proteína. Este hecho, en adultos puede tener unas repercusiones menores que en un animal en crecimiento, ya que el balance de nitrógeno del animal, aunque menor, permanece positivo. Sin embargo en animales al destete este descenso en la retención proteica supone una consecuencia adversa en los valores normales de crecimiento y desarrollo. Asociada a esta secuela se han detectado alteraciones de los ácidos biliares debido a modificaciones en su biosíntesis y excreción (Wostmann 1977, Riottot et al 1980) que igualmente afectan al crecimiento.

Efecto de la dieta en la microbiota fecal

La dieta influye marcadamente en la composición de la microbiota de diferentes regiones del aparato digestivo en rata y ratón (Brockett y Tannock 1981). La reducción observada en el contenido de flora indeseable en ratas alimentadas con pienso tratado térmicamente exento de flora bacteriana supone para el animal una disminución a largo plazo de los niveles de microbiota fecal y por consiguiente digestiva. Al no aportar nuevos gérmenes en el alimento, los procesos de lisis digestiva mantienen los niveles de la flora en valores reducidos, disminuyendo las posibles patologías asociadas. Este hecho es bastante significativo dado que la microflora anormal del tracto gastrointestinal afecta a un amplio número de procesos bioquímicos (Savage 1984), y genera en sí misma o través de las sustancias que produce, diferentes efectos sinérgicos en la respuesta inmune (Bealmeir et al. 1984).

Índice de consumo

La alteración de la textura, color y sabor del alimento, pueden afectar a su consumo (palatabilidad), modificando a medio o largo plazo el normal crecimiento o desarrollo de los animales de laboratorio y sus índices de producción: menor peso al nacer, aumento del intervalo entre camadas, y otros (Porter et al 1965, Newberne et al 1980, Knapka 1983, Coetes y Gustafsson 1985).

De los datos obtenidos se desprende que no existen efectos sobre el incremento de peso y el consumo comparado de la dieta control y las experimentales a pesar de los

CERTIFICACIÓN Y EUROPEIZACIÓN! CERTIFIED AND EUROPEAN! EUROPAISCH UND ZERTIFIZIERT! CERTIFIÉ EUROPÉEN!



- Agilidad y personalización de servicios.
- Laboratorio y equipos preconcebidos.
- Ética profesional y el respeto al animal.
- Certificación ISO 9002 como prueba de confianza.



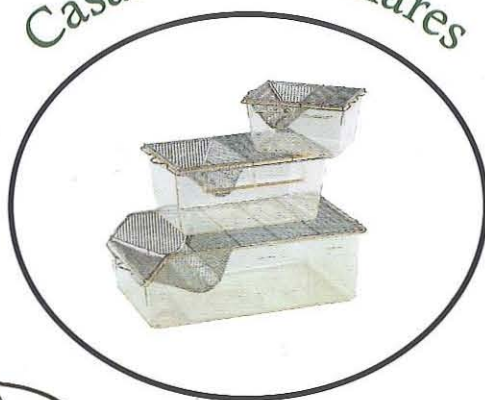
Representante en España:
JANVIER ESPAÑA, S.L.
Tembleque, 56. 28024 MADRID.
Telf.: 91 711 25 53. Fax: 91 518 12 60

 **ELEVAGE
JANVIER**

Route des Chênes Secs - BP 5
53940 LE GENEST-ST-ISLE - France
Tél. : + 33 (0) 2 43 02 11 91
Fax : + 33 (0) 2 43 02 00 15
E-mail : service.commercial@elevage-janvier.fr

¿Buscas piso?

Casas Unifamiliares



Complejo



Viviendas de Protección Oficial

e Apartamentos



Panlab, s.l. desde hace ya más de 30 años, aporta al mundo de la Investigación una completa gama de dietas, lechos, equipamiento de estabulario e instrumentos de fabricación propia y de las marcas más reconocidas en el sector.

C/ Loreto 50
08029 BARCELONA
SPAIN

Teléfono: + 34 93 419 07 09
Fax: + 34 93 419 71 45
E-mail: info@panlab-sl.com
Web site: www.panlab-sl.com

Lechos de chopo para animales de investigación



SOURALIT, S.L.

Pol. Ind. Los Espinos, s/n - 26321 BOBADILLA (La Rioja) España
Tel.:(34) 941 37 50 20 - Fax:(34) 941 37 50 05 - Tel. móvil: 609 77 60 66
e-mail: souralit@ctv.es



cambios observados en el aprovechamiento del nitrógeno. Sería necesario determinar un "valor biológico" para establecer posibles repercusiones con más exactitud. Un aspecto al que merecería prestarle alguna atención es a la dureza del pellet tras ser sometido al calor. Esta se ve incrementada en un 49-50% en dietas esterilizadas a 121°C, en un ciclo completo de 2 horas como consecuencia de la caramelización de los carbohidratos y el almidón (Tghipen et al. 1993). Algún dato indirecto sobre este aspecto, al menos en la faceta que pudiera afectar al consumo, podemos tenerlo con los datos de ingesta de los animales en los experimentos de utilización digestiva y metabólica, no observando, en principio, variaciones en la ingesta de pienso del grupo control y de los experimentales. Sin embargo sería aconsejable, la medición directa de los cambios en la dureza de los pellet mediante "chatillon".

AGRADECIMIENTOS

Al personal técnico del Instituto Agroalimentarios de Madrid por la realización de diferentes analíticas de los piensos; a Concepción Castels y María Jesús Verdejo del Laboratorio Agroalimentario de Atarfe (Granada) por colaborar en la puesta a punto de las técnicas de análisis microbiológico; a los técnicos de NANTA Madrid, por su información adicional y numerosas discusiones que abren nuevas vías de investigación acerca del efecto térmico sobre los complejos vitamínicos; a Damiá Ribot de NANTA Tarragona por permitir visitar y estudiar in situ el proceso de fabricación de las dietas de B&K. Antonio Pérez Robert de MATACHANA, nos facilitó información adicional sobre los sistemas más adecuados de esterilización. Proyecto financiado por B & K, dentro del programa de investigación de la Fundación Universidad - Empresa, proyecto 3695-1998, Universidad de Granada.

BIBLIOGRAFÍA

Ackroff K, et al., 1999. Palatability and foraging cost interact to control caloric intake. *J Exp Psychol Anim Behav Process.* 1999 Jan;25(1):28-36.

Ahlestedt, S. 1981. Experimental *Escherichia coli* 06 infection in mice. *Act. Patho. et Microbio. Scandinavia. Section C*, 89, 15-22

Andrieux, C., Sacquet, E. & Gueguen, L. 1980. Interaction between Maillard's reaction products, the microflora of the digestive tract and mineral metabolism. *Reprod., Nutr., Develop.* 20, 1061-1069.

Benacerraf, B., Sebestyen, M.M. & Schlossman, A. 1959. A quantitative study of the kinetics of blood clearance of P(32)-labelled *Escherichia coli* and *Staphylococci* by the reticuloendothelial system. *J. Exper. Medic.*, 110, 27-48.

Brockett, M. y Tannock, G.W. 1981. Dietary components influence tissue-associated lactobacilli in the mouse stomach. *Canadian Journal of Microbiology* 27,452-455

Cameron, D.B., 1999 Believes irradiation important for food safety. *J Am Vet Med Assoc* 1999 Apr 1;214(7):998

Clarke, H.E., M.E. Coetes, J.K. Eva. 1977. Dietary standard for laboratory animals: report of the laboratory animal center diet advisory committee. *Lab. Anim. (London)*, 11:1-28

Coates, M.E. 1972. In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory animals.* (UFAW ed.), Churchill Livingstone, Edinburgh and London, pp 26-46.

Coates, M.E. 1984. Sterilisation of diets. In: *The germ-free animal in Biomedical Research.* Ed. M.E. Coates and B.E. Gustafsson. *Laboratory Animal Handbooks* 9, Lab. Ani. Ltd., London, pp 85-90

Coates, M.E., Ford, J.E., Gregory, M.E. and Thompson, S. Y. 1969. Effects of gamma-radiation on the vitamin content of diets for laboratory animals. *Lab. Anim.*, 3, 39-49.

Coates M.E. 1984. En: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals* (UFAW eds.), p. 26-46, Churchill Livingstone, Edinburgh.

Committee on Laboratory Animal Diets. 1978. Control of diets in laboratory animal experimentation. *ILAR News* 21. A3-A12.

Cottral G.E. 1978. *Manual of standardized methods for veterinary microbiology.* Cornell Univ, USA. 648 pp.

- Eggum, B.O. 1969. Der Einfluss der Sterilisation auf die Protein-qualität von Futtermischungen. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* 25, 204-210.
- Eva, J.K., Ricke T.T., M.J. 1983. Improvements in diet stability through processing. *Lab. Anim.*, 17, 1-6.
- Farag RS, el-Khawas KH, 1998. Influence of gamma-irradiation and microwaves on the antioxidant property of some essential oils. *Int J Food Sci Nutr.*, Mar;49(2):109-15
- Farkas, J, 1998. Irradiation as a method for decontaminating food. A review. *Int J Food Microbiol* 1998 Nov 10;44(3):189-204
- Ford, D.J. 1977. Effect of autoclaving and physical structure of diet on their utilisation by mice. *Lab Anim.*, 11:235-239
- Ford, D.J. 1976. The effect of methods of sterilization on the nutritive value of a commercial rat diet. *Brit. J. Nutr.* 35, 267-276.
- Foster, H.L., Black C.L., Pfan E.S. 1964. A pasteurisation process for pellets diet. *Lab. Anim. Care*, 14:373-381.
- Furuta, K., Morimoto, S. and Sato, S. 1980. Bacteriological contamination of feed ingredients, formulated chicken feed and reduction of viable bacteria by pelleting. *Lab. Anim.*, 14, 221-224.
- ICN Bioquimicals 1992. Animal research diets. ICN. 56 pp
- ICLAS International Council for Laboratory Animal Science, 1987. Directrices de ICLAS sobre la alimentación y formulación de dietas para los animales utilizados en investigación biomédica. 127 pp. ICLAS (C.S.I.C.).
- ILAR Committee on Laboratory Animal Diets 1978. Control of diets in laboratory animal experimentation. *ILAR News* 21. A3-A12.
- Isler D., Huber, T., M. Gadiant, F. Hoffmann, 1999. Effect of autoclaving on vitamin retention in pelleted lab animal feed. Proceeding Joint Meeting ICLAS-FELASA. Palma de Mallorca. June 1999.
- Keller HE 1988. Analytical methods for vitamins and carotinoids in feed. F.Hoffmann- La Roche Ltd. 125 pp.
- Knapka, J.J. 1983. Nutrition, p 51-67. En H.L. Foster, J.D. Small, Fox, J.G. (ed). *The mouse in biomedical research*. Vol.III. Academic Press. NY.
- Kunstyr, I. 1992. Diagnostic microbiology for laboratory animals. L.A.S.A. Hannover. 187 pp
- Ley, F.J., Bleby, J., Coates, M.E. and Paterson, J.S. 1969. Sterilisation of laboratory animal diets using gamma-radiation. *Lab. Anim.*, 3, 221-254.
- MAPA 1987. Sobre sustancias y productos que intervienen en la alimentación de los animales. Real Decreto 418/1987, BOE, 20 de Febrero.
- MAPA 1988. Orden por la que se establecen especificaciones bacteriológicas para los productos destinados a la alimentación de animales. BOE 17 de Febrero, 1988.
- Matachana 1992. Manual Técnico de Esterilización y Lavado. MATACHANA S.A. 30 pp.
- National Research Council. 1978. Nutrient requirements of laboratory animals. 3rd edition. National Academy of Sciences. Washington. D.C.
- Newberne, P.M., Fox, J.G. 1980. Nutritional adequacy and quality of control of rodent diets. *Lab. Anim. Sci.*, 30:352-365.
- Pascual Anderson, MR. 1992. Microbiología alimentaria. Metodología y analítica para alimentos y bebidas. Diaz de Santos, Madrid, 360 pp
- Pérez, P., Pulgar, R., Olea-Serrano, M.F., Villalobos M., Rivas, A., Metzler, M., Pedraza V., Olea, N., 1998. The estrogenicity of bisphenol-A related diphenylalkanes with various substituents at the central carbon and the hydroxy groups. *Environ. Health Perspect* 106:167-174.
- Porter, G., Lane-Petter, W. 1965. Observation on autoclaved, fumigated and irradiated diet for breeding mice. *Br. J. Nutr.*, 19:295-305

ProLabor 1993. Catálogo general de dietas. PROLABOR, S.L.. 15 pp

Roe F.J.C. 1983. Microbiological standardisation of laboratory animals. Market Cross H.London. 111 pp.

Riottot, M., Sacquet, E. & Leprince, C. 1980. Variations of bile salt pool size and secretion rate in rats according to the models of sterilisation and preparation of a semi-synthetic diet. *Reprod., Nutr., Dévelop.* 20, 1481-1488.

Savage, D.C. 1984. Present view of the normal flora. In: *The germ-free animal in Biomedical Research*. Ed. M.E. Coates and B.E. Gustafsson. *Laboratory Animal Handbooks* 9, Lab. Anim. Ltd., London, pp 119-135

Saco Galvany M. et al. 1985. *Microbiología de materias primas para piensos compuestos y otros alimentos*. MAPA. Madrid. 85 pp.

Sacquet, E., Leprince, C. & Riottot, M. 1979. Effect of different modifications of a semisynthetic diet on bile acid metabolism in axenic and holoxenic rats. *Annal. de Biolog., Biochi., Biophys.* 19, 1677-1688.

Schoen, A. & Hiller, H.H. 1971. Verdaulichkeit einer Ratten- und Mäusezucht-diät nach gammastrahlen-bzw. Dampfsterilisation bei konventionellen Ratten. *Zeitschrift für Tierphy* 27, 338-343.

Strong, F.M. 1974. Toxicants occurring naturally in foods. *Nutr. Rev.*, 32, 225-231.

Thigpen, J.E. et al 1993. A standard procedure for measuring pellet hardness of rodent diets. *Lab. Anim. Science*, 43, n15, Oct. 1993. 488-491

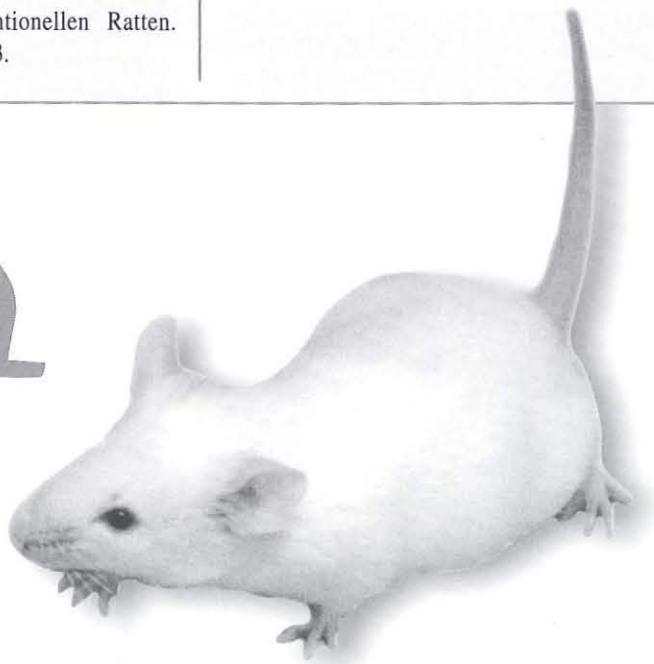
Tucker, M.J. 1986. Diet and disease in the rodent. *ICLAS Bulletin* No. 58, 22-24.

Wise, A. 1982. Interaction of diet and toxicity - the future role of purified diet in toxicological research. *Archives of Toxicology*, 50, 287-299.

Wostmann, B.S. 1975. Nutrition and metabolism of the germenfree mammal. *World Rev. Nutr. Diet*, 22, 40-92

Wostmann, B.S., Beaver, M., Chang, L. & Madsen, D. 1977. Effect of autoclaving of a lactose-containing diet on cholesterol and bile acid metabolism of conventional and germ-free rats. *Ame. J. of Clin. Nut.* 30, 1999-2005.

Yoshida, T. y Shinoda, S. 1982. Role of gastrointestinal microflora on digestibility in young mice fed with autoclaved and irradiated diets. *Agricultural and Biological Chemistry* 46, 561-563



3 LIBROS Y CONVOCATORIAS

LIBROS • publicaciones

■ MEDICINA CARDIOVASCULAR DE PEQUEÑOS ANIMALES

Kittleson, Mark, D.Kienle, Richard D. 2000, 672 Págs., 1ª Edic., Cartoné 23.999 Ptas. (IVA incluido), 144,24 Euros

Índice: Embriología y anatomía cardíacas. Fisiología cardiovascular clínica normal. Identificación, historia y exploración física. Radiografía del sistema cardiovascular. Electrocardiografía. Ecocardiografía. Cateterización cardíaca. Clasificación de las alteraciones cardíacas mediante la determinación ecocardiográfica del estado funcional. Fisiopatología de la insuficiencia cardíaca. Tratamiento de la insuficiencia cardíaca. Acercamiento al paciente con enfermedad cardíaca. Persistencia del conducto arterioso. Defectos del septo. Tetralogía de Fallot. Estenosis pulmonar congénita. Estenosis aórtica. Anomalías congénitas de las válvulas auriculoventriculares. Otras anomalías cardiovasculares congénitas. Degeneración mixomatosa de las válvulas auriculoventriculares. Insuficiencia miocárdica crónica como consecuencia de una enfermedad miocárdica primaria. Cardiomiopatía hipertrófica. Cardiomiopatía hipertrófica. Cardiomiopatía felina restrictiva y sin clasificar. Dirofilariasis. Endocarditis infecciosa. Enfermedad pericárdica y neoplasia cardíaca. Hipertensión arterial pulmonar y sistémica. Diagnóstico y tratamiento de las arritmias. Síncope. Fármacos para el tratamiento de las

arritmias. Terapia de intervención antiarrítmica. Enfermedad tromboembólica. Efectos de las enfermedades sistémicas sobre el sistema cardiovascular.

■ SMALL ANIMAL SURGERY SECRETS

Harari, J. 2000, 381 Págs., Rústica 10.381 Ptas. (IVA incluido), 62,39 Euros

Este texto contiene información esencial y práctica para la resolución de problemas quirúrgicos comunes encontrados en la práctica clínica. En cerca de 100 capítulos, el autor pregunta y responde toda una serie de preguntas clave con las que se encuentra el clínico en la práctica quirúrgica.

Índice: General concepts. Soft tissue surgery. Orthopedic surgery. Neurosurgery. Oncology

■ FLUID THERAPY IN SMALL ANIMAL PRACTICE

Dibartola, Stephen P. 2000, 612 Págs., 2ª Edic., Cartoné 20.778 Ptas. (IVA incluido), 124,88 Euros

Índice: Section 1: Applied Physiology Composition and Distribution of BodyFluids in Dogs and Cats Renal Physiology Section 2: Electrolyte Disorders Disorders of Sodium & Water: Hyponatremia and Hyponatremia Disorders of Chloride: Hyperchloremia and Hypochlo-

mia Disorders of Potassium: Hyperkalemia and Hypokalemia Disorders of Calcium: Hypercalcemia and Hypocalcemia Disorders of Phosphorus: Hyperphosphatemia and Hypophosphatemia Disorders of Magnesium: Hypomagnesemia Section 3: Acid-Base Disorders Introduction to Acid-Base Disorders Metabolic Acid-Base Disorders Respiratory Acid-Base Disorders Mixed Acid-Base Disorders Section 4: Fluid Therapy Introduction to Fluid Therapy Technical Aspects of Fluid Therapy: Catheters and Monitoring of Fluid Therapy Perioperative Management of Fluid Therapy Fluid Therapy for Gastrointestinal, Pancreatic, and Hepatic Disease Fluid Therapy in Endocrine and Metabolic Disorders Fluid and Diuretic Therapy in Heart Failure Fluid Therapy during Intrinsic Renal Failure Shock Syndrome Section 5: Special Therapy Blood Transfusion and Blood Substitutes Parental Nutrition Plasma Expanders and Hypertonic Saline Therapy Hypertonic Fluid Therapy Peritoneal Dialysis Hemodialysis.

■ **AN ATLAS OF ULTRASONOGRAPHY IN THE DOG AND CAT**

Poulsen-Nautrup, C. 2000, 272 Págs., Tela 33.939 Ptas. (IVA incluido), 203,98 Euros

En este volumen, los autores describen todos los principales diagnósticos en perros y gatos realizados mediante ultrasonidos y ecografía Doppler. Se dedica una atención particular a la ecocardiografía, sonografía abdominal y pélvica y ultrasonografía fetal. Este libro también trata sobre el reconocimiento de la enfermedad y la evolución de ésta durante el tratamiento. Los autores muestran casos ilustrativos usando radiografías convencionales, tomografías microfocales computerizadas, fotografías y dibujos. Diseñado generosamente y de fácil uso, este libro será una fuente de constante y esencial referencia para todos los veterinarios que quieran interpretar las imágenes por ultrasonidos.

■ **MANUAL DE ORTOPEDIA Y REPARACION DE FRACTURAS DE PEQUEÑOS ANIMALES**

Piermattei, Donald L and Flo, Gretchen L. 1999, 756 Págs., Rústica 9.900 Ptas. (IVA incluido), 59,50 Euros

Índice: Principios generales de diagnóstico y tratamiento de las fracturas, cojeras y enfermedades de las articulaciones: Examen ortopédico y métodos de diagnóstico. Fracturas: clasificación, diagnóstico y tratamiento. Injertos óseos. Unión retrasada y no unión. Tratamiento de infecciones óseas agudas y crónicas. Artrología. Principios de cirugía articular. FRACTURAS Y ENFERMEDADES ORTOPÉDICAS DE LA EXTREMIDAD TORÁCICA: Fracturas de la escápula. La articulación del hombro. Fracturas del húmero. La articulación del codo. Fracturas del radio y el cúbito. Fracturas y otras enfermedades ortopédicas del carpo, el metacarpo y las falanges. FRACTURAS Y ENFERMEDADES ORTOPÉDICAS DE LA EXTREMIDAD PELVIANA: Fracturas de la pelvis. Articulación de la cadera. Fracturas del fémur y la rótula. La articulación de la rodilla. Fracturas de la tibia y el peroné. Fracturas y otras enfermedades ortopédicas del tarso, el metatarso y las falanges. OTRAS FRACTURAS Y RECONSTRUCCIÓN DE DEFORMACIONES ÓSEAS: Fracturas y luxaciones de la mandíbula y el maxilar. Fracturas en animales en crecimiento. Reparación del crecimiento y la cicatrización óseas anormales. DIVERSOS TRASTORNOS DEL SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO: Procesos patológicos en pequeños animales.

■ **PRACTICAL WILDLIFE CARE: FOR VETERINARY NURSES, ANIMAL CARE STUDENTS AND REHABILITATORS**

Stocker, Les 2000, 288 Págs., Rústica 6.342 Ptas. (IVA incluido), 38,12 Euros

En años recientes, el cuidado de accidentes y huérfanos de animales salvajes ha comenzado a ser común, donde antes la eutanasia era la opción recomendada. El cuidado hacia estos problemas es a menudo inadecuado debido al desconocimiento general sobre estas especies. Los accidentes se presentan en un amplio número de especies y estas no son normalmente vistas en la veterinaria práctica. Este libro describe cómo manipular y dar los primeros auxilios, cómo alimentarlos y liberarlos, y muchas otras materias no contempladas en el entrenamiento normal de la veterinaria. También nos pone una serie de recursos para el ayudante veterinario o el rehabilitador que permiten ayudar al cirujano veterinario. Se incluyen también las enfermedades más comunes y tratamientos

profilácticos, así como técnicas simples de estabilización que permiten prevenir el dolor y sufrimiento y dar el tratamiento de elección a largo plazo. Contiene más de 150 fotos, 48 de las cuales son en color.

Índice: Prime directives; First response; Fluid therapy part 1: Building blocks; Fluid therapy part 2: Administration; Wound management part 1: The biology of wounds; Wound management part 2: The treatment of wounds; Fracture management part 1: Biology, first aid-mammal casualties; Fracture management part 2: Bird, reptile & amphibian casualties; Avian wildlife medicine; Mammalian wildlife disease; Garden birds parts 1 & 2; The corn feeders: Pigeons and Doves; Corvids; Water birds-ducks; Water birds-swans; Geese and other water birds; Birds of prey; Seabirds including oil pollution; Hand rearing orphaned birds; Small mammals; Hedgehogs; Rabbits & hares; Red fox; Mustelids; Deer; Bats; Other mammals species; Rearing orphaned wild mammals; Reptiles & Amphibians; Appendices.

■ ADAPTATION AND LEARNING

*Lindsay, Steven R. 2000, 584 Págs., Rústica
18.020 Ptas. (IVA incluido), 108,30 Euros*

Veinticinco años de experiencia hacen de este libro una importante referencia. Veterinarios, científicos animales, propietarios de perros, entrenadores, consultores y consejeros, encontrarán en este libro una referencia clave en todo aquello que concierne al mantenimiento y control humano sobre los perros. Reflejando el extenso trabajo que el autor ha hecho con perros, este libro contiene extensas explicaciones de tópicos, y proporciona estrategias de comportamiento diseñadas, testadas y usadas por el autor. Más de 50 figuras y tablas ilustran esta única y significativa contribución para el conocimiento del comportamiento, entrenamiento y aprendizaje en los perros.

Índice: Foreword; Acknowledgements; Introduction; Origins and Domestication; Development of Behaviour; Neurobiology of Behaviour and Learning; Sensory Abilities; Biological and Dispositional Constraints on Learning; Classical Conditioning; Instrumental Learning; Aversive Control of Behavior; Learning and Behavioral Disturbances; Human-Dog Companionship; Cultural and Psychological Significance; Index.

■ LABORATORY ANIMAL LAW

*Dolan, Kevin 2000, 225 Págs., Rústica
7.772 Ptas. (IVA incluido), 46,71 Euros*

Escrito para todos aquellos relacionados con el uso de animales en investigación, este libro contiene una completa guía sobre las obligaciones legales con los animales. El énfasis principal es sobre Animal Act 1986 (Scientific Procedures), pero también sobre otras legislaciones como, Protection of Animals Act 1911; the Veterinary Surgeons Act 1966, the Agriculture (Miscellaneous Provisions) Act 1968, the Animal Health Act 1981 y la Directiva Europea Belai, también son explicadas.

Índice: Introduction: The general legal protection of animals Part I: The Animals (Scientific Procedures Act) 1986; The coming of the law on laboratory animals; The protected animal; The regulated procedure; Schedule I and other schedules; The personal licence; The project licence; Training; Certificate of designation; Codes of practice; Re-use; Records, returns and reports; Offences, penalties and prosecutions; Officials, bodies and publications Part II: The law on veterinary surgery; Drugs in research; Liability in the animal unit; Ecological aspects of animal legislation; Some relevant regulations and the impact of European legislation; Animal welfare in law; Legal aspects of the transport of animals; The law on the import and export of animals.

■ THE LABORATORY RAT

*Krinke, Georg J. 2000, 756 Págs., Cartoné 37.543
Ptas. (IVA incluido), 225,64 Euros*

Este título estará también disponible «on line». La versión electrónica será lanzada simultáneamente, y vendida como parte de un paquete integrado. La presentación con extensos vínculos de hipertexto y las herramientas de búsqueda avanzadas, permitirán encontrar los datos rápidamente. Este libro es el primero de esta clase. Será una fuente de información esencial para investigadores y estudiantes en ciencias biomédicas y en la industria farmacéutica.

Los compradores podrán registrar todos los números IP de su institución, lo cual permitirá un acceso completo a la web para los números IP registrados. Se podrá

también imprimir todo el material de la versión electrónica para el uso propio de los miembros.

El NCRR y el NIH han editado una edición actualizada sobre «Análisis de costos en Animalarios» Disponible en formato pdf en la siguiente web:

<http://www.ncrr.nih.gov/newspub/cars.pdf>

El NCRR asesorado por un comité de expertos encabezados por el Dr. Charles McPherson, revisan la edición de este manual de 1979. La introducción del mismo apunta que la revisión fue sugerida a causa de:

- * Incremento de la sofisticación en la investigación animal, en particular en lo referente a las tecnologías genéticas
- * Evolución de los cuidados animales en los animalarios
- * Incremento de las regulaciones en el cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- * El uso generalizado de los ordenadores en el cálculo de análisis de los costos
- * La necesidad de una mayor consistencia en análisis

de los costos a la hora de diseñar infraestructuras de animalario.

Se pueden obtener copias impresas de la NCRR's Office of Science Policy and Public Liaison — 301 435 0888.

Los proceedings de la conferencia internacional sobre puntos finales humanitarios (eds. Morton and Hendriksen), de 1998 en Holanda están disponibles en la red en:

<http://www.lal.org.uk/pdf.htm>

El centro de información de la USDA anuncia su recurso más reciente sobre el uso de cerdos en investigación biomédica («Information Resources for Swine in Biomedical Research») disponible en

<http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/swine/swine.htm>.

Este documento contiene texto y fotografías sobre anatomía comparada y fisiología del cerdo, citas bibliográficas de modelos comunes, y una lista de recursos sobre esta especie en internet. Michael M. Swindle, PhD, es un experto en anatomía porcina, anestesia, y cirugía.

CONVOCATORIAS

■ CURSILLO SOBRE ETOLOGÍA Y CONSERVACIÓN

4-7 de noviembre de 2000

Una reunión de trabajo sobre etología y conservación está convocada por la Escuela Internacional de Etología en Erice, Sicilia del 4 al 7 de Noviembre de 2000. Los temas a tratar versan sobre predación, migración, comportamiento alimentario, sistemas de reproducción, organización social, dinámica de poblaciones y genética

de poblaciones, fragmentación del hábitat, caza, y usos no consumista de la vida salvaje. Para mayor información contactar con Prof. Danilo Mainardi, Dipartimento Scienze Ambientali, Università di Venezia, Campo della Celestia 2737/B, Castello, 30122 Venice, Italy [e-mail:mainardi@unive.it].

El costo será aproximadamente de 500 US\$, incluyendo el cursillo, hospedaje, viaje y transporte desde el aeropuerto de Palermo. Se aplicará un descuento del 50% si está disponible para estudiantes.

■ **CURSO CORTO DE CHARLES RIVER - PRIMERA EDICIÓN EUROPEA (INGLÉS)**

Strasbourg - France January 24,25,26,2001.

Programa intensivo diseñado para educar y actualizar a la comunidad investigadora biomédica sobre asuntos de actualidad y avances tecnológicos.

FINAL PROGRAMME (English language) :

WEDNESDAY - JANUARY 24, 2001 (8 :30 A.M. - 6 :50 P.M)

Genetics of outbred, inbred and F1 colonies, definition and characteristics.

Pr Hans Hedrich (Hannover, D)

Genetic management and monitoring of inbred and outbred rodent colonies.

Dr William Shek (Wilmington, USA)

Genetic management and testing of genetically modified rodent colonies.

Dr Patrick Hardy (L,Arbresle, F)

Strategies and advances in genetic engineering and applications.

Pr Louis-Marie Houdebine (Jouy-en-Josas, F)

Archiving transgenic mouse strains: the use of sperm cryopreservation, IVF and ICSI.

Dr Esther Baart (Wageningen, NL)

Feeding practice of laboratory animals in the new millennium: a neglected experimental factor ?

Pr Merel Ritskes-Hoitinga (Odense, DK)

Nutrition, experimental design and results.

Pr Anton Beynen (Utrecht, NL)

>From 8 :00 p.m. : Get-together cocktail in Hilton hotel.

THURSDAY - JANUARY 25, 2001 (8 :30 A.M. - 6 :50 P.M)

Bio-exclusion and bio-containment techniques, assessment of macro- and micro-environmental conditions.

Dr William White (Wilmington, USA)

Emerging diseases of laboratory rodents, including genetically modified and immunodeficient animals.

Dr Charles Clifford (Wilmington, USA)

Rodent health monitoring programmes: rationalising the results, classifying the contaminants.

Dr Colin Dunn (Margate, UK)

Production biosecurity and health status of pigs for xenotransplantation.

Dr Dan Tucker (Cambridge, UK)

Swine in biomedical research.

Pr.Klaus Miltzer (Essen , D)

Biology and pathology of rabbit.

Dr Andre Couture (Montreal, Canada)

Experimental techniques (1) : how to improve biological effects of anti-angiogenic agents by using osmotic pump?

Dr Tom Drixler (Utrecht, NL)

Experimental techniques (2): use of telemetry in laboratory animals .

Dr Massenzio Fornasier (Nerviano-MI, I)

Experimental techniques (3) : Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy.

Dr Greg Whelan (Herts, UK)

>From 8 :00 p.m. : Dinner with wine tasting in an Alsatian inn.

FRIDAY - JANUARY 26, 2001 (8 :30 A.M. - 4 :15 P.M)

Caging, housing and enrichment in breeding units.

Dr William White (Wilmington, USA)

Impact of enrichment in mice on behavior, physiology and reproduction and their variance.

Pr Hans Joachim Hackbarth (Hannover, D)

Enrichment boom - should scientists be concerned ?

Pr Timo Nevalainen (Kuopio, FIN)

Panel discussion on enrichment and caging.

Pr Timo Nevalainen (Kuopio, FIN)

Pain assessment and pain phenotyping in mice and rats.

Pr Fernando Cervero (Madrid, SP)

Current issues in laboratory animal anaesthesia and analgesia.

Pr Paul Flecknell (Newcastle, UK)

Humane endpoints : perhaps the greatest challenge of all ?

Dr David Whittaker (Cambridgeshire, UK)

Ethical issues, current and future evolutions.

Mrs Laurence Lwoff (Strasbourg, F)

>From 4.30 p.m. End of the Short Course - Distribution of certificates of attendance.

MÁS INFORMACIÓN

Lugar de reunión: Hilton Hotel, Avenue Herrenschmidt, F -67000 Strasbourg.

Tel : 33.(0)3.88.37.10.10.

Fax : 33.(0)3.88.36.83.27.

Website : <http://www.hilton-strasbourg.com>

HOSPEDAJE :

* Un número limitado de habitaciones ha sido reservado en el Hotel Hilton a un precio de FF790 (single room) and FF 860 (double room) por noche, desayuno e impuestos incluidos. Contactar con Ulrike Peter para las reservas

Website : <http://www.strasbourg.com> (information in French or English) and click on (E)Office of Tourism,.

TASAS DE INSCRIPCIÓN :

• 730 FF por los tres días pagables al gabinete de Charles River: Se incluye material para el curso, almuerzos y breaks, y actividades sociales con transporte.

Fecha de cierre para inscripciones :

December 15, 2000.

■ **6TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE PATHOLOGY OF REPTILES AND AMPHIBIANS**

University of Minnesota. April 18-20 2001.
<http://www.cbs.umn.edu/meetings/path/>

Para más información contactar con Robert McKinnel enmckin002@maroon.tc.umn.edu

■ **AUSTRALIAN AND NEW ZEALAND SOCIETIES OF LABORATORY ANIMAL SCIENCE: MILLENNIUM CONFERENCE.**

13-17 de Noviembre de 2000

Hong Kong

tonyjames@cuhk.edu.hk

■ **LASA WINTER SCIENTIFIC MEETING**

30 de Noviembre al 1 de Diciembre de 2000

Lugar por confirmar. LASA@globalnet.co.uk

■ **ICLAS/FELASA COURSE IN LABORATORY ANIMAL SCIENCE FOR CATEGORY B SPECIALIST-LABORATORY ANIMAL TECHNICIANS**

14-19 de Octubre de 2001. Riga

gjakobsons@grindeks.lv



■ **«MASTER EN CIENCIA Y BIENESTAR DEL ANIMAL DE LABORATORIO».**

Universitat Autònoma de Barcelona

Plazo de matrícula abierto para el curso sobre «Gestión de una instalación para animales de laboratorio y de sus recursos» que tendrá lugar entre el 13 y el 17 de noviembre de 2000. El precio es de 85.000 Pts. Con 15 personas matriculadas se cubrirían los costes. Si hubiese más (máximo total curso 20 personas) podríamos otorgar becas parciales a aquellas personas que su empresa no les cubra la matrícula. Aunque este curso forme parte del programa del Master, al que es posible incorporarse en cualquier curso, también es un curso independiente y da derecho a una acreditación por parte de la «Escola de Doctorat i Formació Continuada de la Universitat Autònoma de Barcelona». Por tanto, aunque no se tenga interés en realizar todo el Master, se pueden realizar uno o más de los cursos.

CONVOCATORIAS



with the support of the
Commission of European
Communities' Training
and Mobility programme

FIRST EUROCONFERENCE ON ANIMAL MODELS OF HUMAN DISEASES : MODELLING HUMAN CANCER IN THE MOUSE : FROM PATHOGENESIS TO HUMAN INTERVENTION

Sesimbra - Portugal - 9-12 March 2001

Chairpersons : **A. Janin, J-C. Ameisen, M. Giovannini**

Invited speakers* : **A. Berns, P. Bertheau, J. Botas, M. Bothol-Baum, P. Briand, M. Cavazzana-Calvo, P. Demant, D. Duboule, G. Evan, F. Falkenburg, R. Fodde, J.L. Guenet, M. Hengartner, W. Kammerloher, D. Klatzman, S. Marino, J. Michaud, M. Oren, K. Shannon, H. Te Riele, H. de Thé, J. Tschopp, M. van der Walk, N. Wernert, L. Zitvogel**

MAIN TOPICS

*pending confirmation

GENE EVOLUTION AND CONSERVATION IN DEVELOPMENT : CONTRIBUTION OF THE DIFFERENT MODEL ORGANISMS

- *Caenorhabditis elegans*
- *Drosophila melanogaster*

MAMMALIAN DEVELOPMENT AND GENETICS : THE MOUSE MODEL

- Development
- Genetics
- Tumour predisposition genes
- Tumour pathology in the mouse
- Genetic engineering in the mouse : new transgenic approaches for modelling cancers

TUMOUR SUPPRESSOR GENES

- Retinoblastoma and P107
- Medulloblastoma in Rb mutant mice
- P53
- APC

ONCOGENESIS AND APOPTOSIS REPRESSOR GENES

- Cmyc
- Bcl2

MICROCHIPS AND MICROARRAYS : GLOBAL APPROACH TO DIFFERENTIAL GENE EXPRESSION

Your are eligible if you are :

Under 36 years of age, a citizen of and working within a European Union member state or in an associated state.
To apply, send to ESH your curriculum vitae and a letter of motivation.
Deadline for application for scholarship : January 31, 2001

RESEARCH AND SOCIETY : ETHICAL PROBLEMS, LEGAL ASPECTS

- The European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes
- Bioethic laws in Europe
- Ethical problems raised by the genetic manipulation of living organisms : philosophical aspects

NEW EXPERIMENTAL THERAPEUTIC STRATEGIES (I) :

Dealing with tumour escape :

- Immune privilege
- Tumoural angiogenesis

Immunotherapeutic approaches :

- Graft-versus-leukaemia response
- Anti-tumoural immunisation

NEW EXPERIMENTAL THERAPEUTIC STRATEGIES (II) :

ACTING ON THE CELL DIFFERENTIATION PROCESS :

- Retinoic acid and arsenic
- Farnesyltransferase inhibitors

Gene therapy :

- Gene Therapy : from mice to humans
- Suicide genes

Registration fee : 381 €

In-training fee : 183 €

Please send me detailed information on **FIRST EUROCONFERENCE ON ANIMAL MODELS OF HUMAN DISEASES**

First Name : Surname :

Position : Address :

City : Country :

Tel. : Fax :

EUROPEAN SCHOOL OF HAEMATOLOGY

Centre Hayem, Hôpital Saint-Louis - 1, avenue Claude-Vellefaux, 75475 Paris cedex 10, France

Tel. (33)1 42 06 65 40 - Fax (33)1 42 06 05 87

e.mail : ghvslaine@esh.org OR eshdi@chu-stlouis.fr - visit our website : www.esh.org

AN INSTITUTION FOR CONTINUING EDUCATION

24-26 August 2000 - Angra-dos-Reis - Rio de Janeiro, Brazil

CONFERENCE ON CYTOPENIAS

In association with the Brazilian School of Haematology

Chairpersons : M.A. Zago, E. Gluckman

22-25 September 2000 - Portofino, Italy

CHRONIC MYELOID LEUKAEMIA

Chairpersons : A.M. Carella, J.M. Goldman

4-8 November 2000 - Sintra, Portugal

EUROCONFERENCE II

BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION

In association with EBMT and CEC

Chairpersons : J. Apperley, E. Gluckman, A. Gratwohl

Local Organiser : M. Abecasis

11-13 November 2000 - Porto, Portugal

EUROCONFERENCE II

IMMUNOBIOLOGY OF TRANSPLANTATION : FROM BASIC SCIENCE TO PRACTICAL MEDICINE

In association with CEC

Chairpersons : D. Charron, J.J. Van Rood

Local Organiser : Helena Alves

25-28 February 2001 - Sesimbra, Portugal

CELL DEATH ACROSS KINGDOMS : PLANTS, ANIMALS AND OTHER ORGANISMS

Chairpersons : P. Golstein, A. Levine, D.L. Vaux

9-12 March 2001 - Sesimbra, Portugal

EUROCONFERENCE I

ANIMAL MODELS OF HUMAN DISEASES

In association with CEC

Chairpersons : A. Janin, J-C Ameisen, M. Giovannini

31 March-4 April 2001 - London, Great Britain

TENTH EUROPEAN TUTORIAL

ON HAEMATOPATHOLOGY :

LEUKAEMIAS AND LYMPHOMAS

Chairpersons : D. Catovsky, J. Diebold, G. Flandrin

2-6 June 2001 - Cape Cod, MA, USA

SECOND ESH - MD ANDERSON CANCER CENTER CONFERENCE ON

MECHANISMS OF CELL DEATH AND DISEASE :

ADVANCES IN THERAPEUTIC INTERVENTION

Chairpersons : T.J. McDonnell, J. Hickman, K-M. Debatin

With the support of the Ares Serono Foundation

September 2001 - Paris, France

ANGIOGENESIS AND TUMOURS

Chairpersons : A. Bikfalvi, P. Carmeliet, G. Tobelem

Please send me detailed information on

First Name : Surname :

Position : Address :

City : Country :

Tel. : Fax :

Email :

EUROPEAN SCHOOL OF HAEMATOLOGY

Centre Hayem, Hôpital Saint-Louis - 1, avenue Claude-Vellefaux, 75475 Paris cedex 10, France

Tel. (33)1 42 06 65 40 - Fax (33)1 42 06 05 87

e.mail : ghyslaine@esh.org OR eshdi@chu-stlouis.fr - visit our website : www.esh.org

4 VARIOS

INSTRUCCIONES PARA LA INSCRIPCIÓN COMO SOCIO EN LA SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA LAS CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO. SECAL

SE PUEDE SOLICITAR UN IMPRESO DE INSCRIPCIÓN A LA SECRETARÍA DE LA SECAL:

- por email: cfcariado@UAM.ES
- por teléfono en el ++34 91 397 54 76
- por fax ++34 91 397 53 53 ,

y enviarlo a la dirección de correos:

Universidad Autónoma de Madrid
Facultad de Medicina, SECAL
 c/ Arzobispo Morcillo 4,28029 Madrid, España

• ó hacerlo directamente a través de la página web de la sociedad: <http://www.secal.es>

EN LA INSCRIPCIÓN DEBERÁ ENVIAR A LA SECRETARÍA LOS SIGUIENTES DATOS PERSONALES:

- Nombre...
- Dirección de correspondencia...
- Cuenta Bancaria para la domiciliación de recibos...
- Teléfono de contacto...
- Fax...
- Email...
- Profesión...
- Lugar de Trabajo...

LA CUOTA ANUAL PARA NUEVOS SOCIOS OFRECE:

1. Ser Socio de la SECAL a todos los efectos.
2. La recepción trimestral de la revista de la SECAL "Animales de Laboratorio".
3. Recibir toda la información relacionada con nuestro

campo de trabajo.

4. La recepción trimestral de la revista científica inglesa Laboratory Animals con una cuota especial por ser la revista científica oficial de la SECAL. El precio normal sin ser socio de la SECAL es de 25.000 Ptas. (150,6 €).

5. Descuento en cursos, congresos y jornadas organizadas por la SECAL.

6. Recepción sin cargo de las traducciones al español de artículos extranjeros publicados originalmente en la revista Laboratory Animals.

7. Pertenecer a la lista de distribución de correo electrónico SECAL-L, compuesta por especialistas y personas interesadas en el área de los Animales de Laboratorio.

EL IMPORTE DE LA CUOTA DE INSCRIPCIÓN ANUAL PARA NUEVOS SOCIOS ES DE:

1.000 ptas. de inscripción el primer año (6,02 €)..

6.000 ptas. de cuota anual (36,07 €)

5.000 ptas. de suscripción anual a Laboratory Animals (30,05 €)

1.000 ptas. si desea recibir el índice de revistas internacionales relacionadas con el Animal de Experimentación (opcional) (6,02 €).

Usted quedará provisionalmente dado de alta en la Sociedad, aunque no será socio a todos los efectos, hasta que sea aceptado por la Asamblea General. La próxima asamblea se celebrará en Zaragoza en el año 2001. Tiene que presentar la firma o conformidad de 2 socios en activo de la Sociedad para facilitar su aceptación.

Health and Safety in Laboratory Animal Facilities

Editors: M. Wood and M.W.Smith

Desde la publicación de *Safety in the Animal House* (Laboratory Animals Handbooks nº 5) en 1981, se han producido cambios significativos en el diseño y función de los animalarios. Se han introducido nuevos conceptos y técnicas en el cuidado de los Animales de Laboratorio, siendo en la Unión Europea, por encima de cualquier otro lugar, donde se han desarrollado mayores controles sobre la salud, la seguridad y el bienestar animal. Ya no es válido describir un animalario simplemente, como un lugar de mantenimiento de animales, sino como un lugar más complejo con moderno equipamiento y múltiples funciones.

Los autores de este nuevo libro demuestran que la salud y la seguridad son parte del trabajo diario y deben ser incorporadas a las prácticas laborales, mediante la rutina y la especialización. En el presente texto se han añadido nuevos capítulos sobre los riesgos a las alergias y sobre los animales transgénicos, además de haberse actualizado las opiniones y el conocimiento sobre todos los temas.

Health and Safety in Laboratory Animal Facilities proporciona una guía de asesoramiento sobre los riesgos y peligros y de qué manera eliminarlos o minimizarlos. También pone énfasis, en que cada instalación es única y como tal debe ser tratada por un personal competente familiarizado con todos estos aspectos.

Se recomienda este libro a todos los profesio-

nales que trabajan con el Animal de Laboratorio.

· Abarca el alcance y categoría de los riesgos de un animalario, incluyendo los riesgos propios de la instalación y la maquinaria.

· Aborda áreas específicas tales como las infecciones, alergias, manipulación genética, los productos químicos y las radiaciones.

· Proporciona la guía más actualizada sobre la dirección en materia de seguridad y la legislación vigente.

Contenidos

Preface; Introduction to health and safety in laboratory animal facilities, MR Gamble; Allergic hazards, S. Gordon and RD. Tee; Infectious hazards, MJ. Dennis; Genetically modified (transgenic) animals, MW. Smith; Chemical hazards, I. Palotai; Radiation safety, DM. Taylor; Safety management, J.Ryder; Legal requirements, K. Dolan.

Laboratory Animal Handbooks Nº. 13, ISBN: 1-85315-421, 249 pp, ð 35 / US\$ 70, Diciembre, 1999

Pedidos a:

Hodle, Doyle, Meadows Ltd
Station Road, Linton
Cams, CB1 6UX, UK
Tel. +44 (0)1223 893855
Fax. +44 (0)1223 893852

devolver este impreso a:

Hodde, Doyle, Meadows Ltd
Station Road, Linton
Cams, CB1 6UX, UK
Tel: +44 (0)1223 893855
Fax: +44 (0)1223 893852

order coupon

Please send me copy/ies of **Health and Safety in Laboratory Animal Facilities** at £35/US\$70 plus £2/US\$4 p&p
I enclose a cheque for £/\$ (made payable to Royal Society of Medicine Press Ltd)

or Please charge my account £/\$

Mastercard Visa Amex Account

Card No

Expiry Date

Signature

Name

Address

Postcode

Tel



The ROYAL
SOCIETY OF
MEDICINE
PRESS Limited



Limited

EBECO

Jaulas Ventiladas en Rack MIKROS-AS

MIKROS-AS está disponible con el sistema de tubo único para presión positiva y también de doble tubo para presión positiva/negativa.

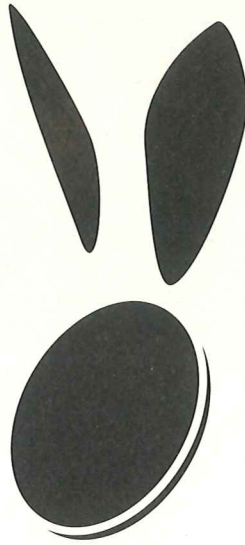


*También suministramos jaulas y equipos para toda clase de investigación animal.
Por favor pregúntenos para más información.*

EBECO**E. BECKER & CO GMBH**

Hermannstrasse 2 - 8 · D-44579 CASTROP-RAUXEL
Tel.: (+49) 23 05-97 30 40 · Fax: (+49) 23 05-97 30 444
E-mail: ebeco@t-online.de

Representante en España: **JANVIER ESPAÑA, S.L.**
C/Tembleque 56 · 28024 MADRID · Telf. 91 7112553 · Fax 91 5181260



Granja San Bernardo

M.D.L.

MINIMAL DISEASE LEVEL

Granja San Bernardo S.L. Tulebras (Navarra) - ESPAÑA tño (948) 85 01 25 - fAX (948) 85 01 25

www.masbytes.es/sanbernardo

e-mail: sanbernardo@masbytes.es



Animales de laboratorio



Servicios transgénicos



Control del estado sanitario y genético



Servicios ensayos pre-clínicos



Equipamiento para animalarios



Huevos SPF



Formación



Dosificación endotoxinas/Test LAL



CRIFFA

C/Paraires, 1-7 Nave 5
Poligono Industrial Santiga
08130 SANTA PERPETUA DE MOGODA
BARCELONA
Tel. : (34) 93 719 27 40 - Fax : (34) 93 729 03 66

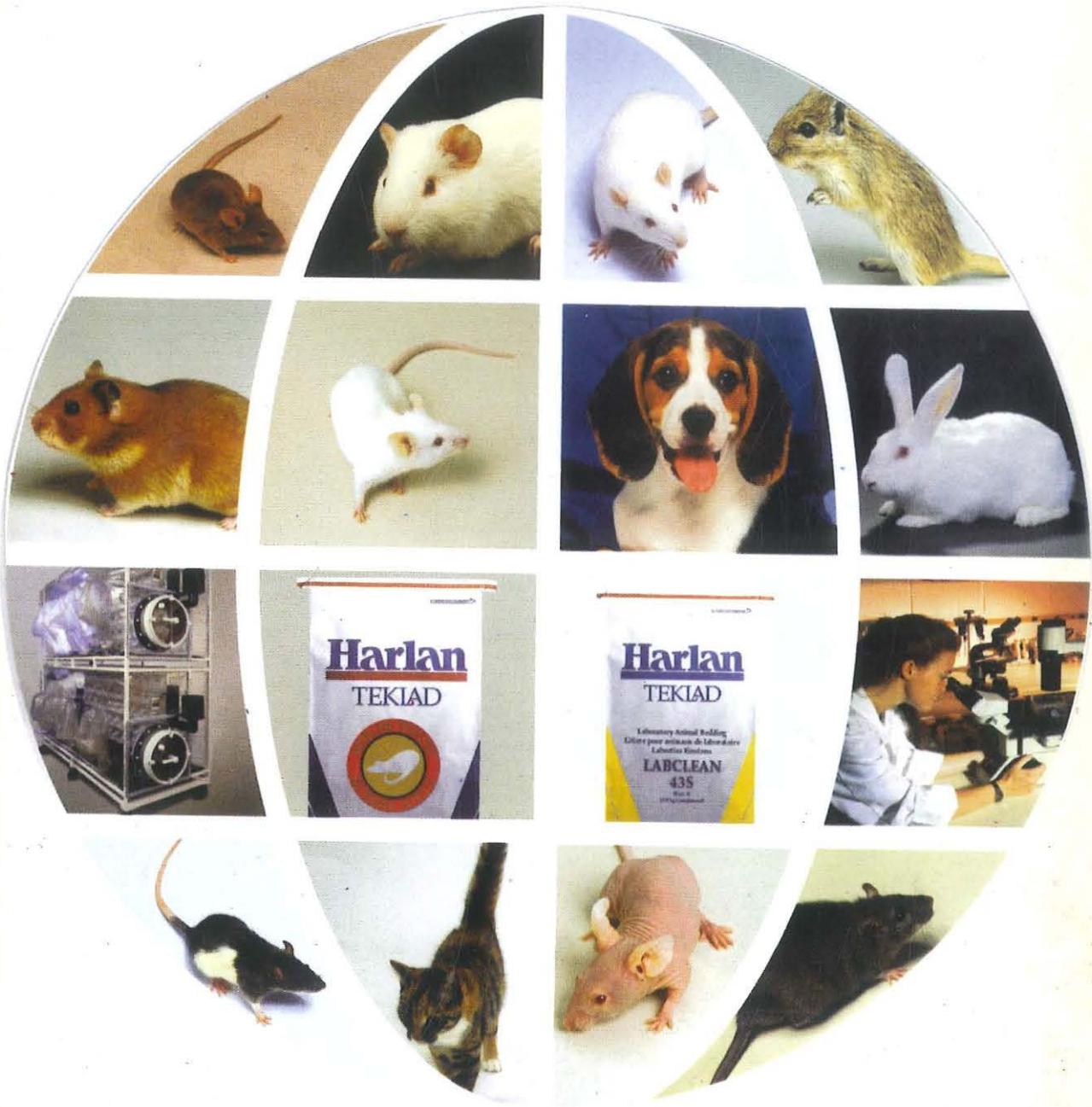

CHARLES RIVER
LABORATORIES

Contributing to the Search for Healthier Lives™

Harlan

INTERFAUNA

IBERICA, S.A.



444 484 408 475 513 486 513

Harlan Interfauna Ibérica, S.A. - Ctra. St. Miquel del Fai, km. 3 - Ap. Postal 38 - 08182 Sant Feliu de Codines (Barcelona)

Tel. 93 866 12 61 - Fax 93 866 03 73 - e-mail: harlaniberica@mx2.redestb.es