

Titulo: El impacto de la producción de Animales de Laboratorio en la transferencia de Tecnología de biofarmacos.

Autor: Lic. Gladys Pérez Arnáez
Jefa de Ventas y Distribución
Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio.

Autor Dr Idania Caballero Torres
Jefa Departamento Gestión del Conocimiento
Centro Inmunología Molecular

Autor Msc Alejandro Portillo Vaquer
Jefe del grupo de calidad
Centro Inmunología Molecular

Animal de Laboratorio.

Definiciones.

Existen algunas definiciones acerca de ¿qué es un animal de laboratorio?, entre las que citamos:

- Un modelo animal se define como un organismo viviente con una inherente adquisición natural a procesos patológicos inducidos o espontáneos semejan el mismo fenómeno ocurrido en el humano (Márquez, 1997; Rand, 2005).
- El animal de laboratorio definido es aquel que es engendrado y producido en condiciones controladas, mantenido en un entorno controlado, que posee claros antecedentes genéticos y microbiológicos y que existe una comprobación sistemática de estos antecedentes" (Nomura, 1990; Pérez, 2007).
- Animal de laboratorio es cualquier especie animal utilizada en experimentación con fines científicos (Rand, 2005; BOE, 2007).

Según Hau (2003) los animales de laboratorio se definen como aquellos organismos vivos en los cuales la biología o el comportamiento normativo pueden ser estudiados, los procesos patológicos, espontáneos o inducidos pueden ser investigados y de una u otra manera semejan el mismo fenómeno ocurrido en el humano o en otras especies.

La producción, el cuidado y el uso de los animales de laboratorio se define, realiza y controla por

un personal autorizado y competente. Se conoce que están dotados de sensibilidad y memoria, que son susceptibles al dolor y al sufrimiento y que la experimentación requiere ante todo del bienestar y protección del animal para obtener resultados válidos (Directiva UE, 1986; CCAC, 1998; NIH, 2002; Ochoa, 2001).

Clasificación de los Modelos de Animales.

Consideraciones éticas y de sentido común restringen la investigación en humanos. Por esta razón el uso de modelos animales para el estudio de “desórdenes humanos” juega un rol crítico en entender los procesos de las enfermedades y de hecho, son de gran valor para el diseño y pruebas de regímenes de tratamiento. Una gran variedad de especies, vertebrados e invertebrados, se utilizan con estos fines (Rand, 2005).

La mayoría de los modelos de animales de laboratorio se desarrollan y se usan en estudios de causa, naturaleza y cura de desórdenes humanos. Ellos pueden convenientemente categorizarse en cinco grupos que son los siguientes (Pinto, 2002; Rand, 2005; Hrapkiewicz, 2007):

- Inducidos (experimentalmente) como modelos de enfermedades.
- Espontáneos (genético enfermedades).
- Transgénicos.
- Modelos de enfermedades negativos.
- Modelos de enfermedades oportunistas.

Un modelo animal puede ser considerado homólogo si el síntoma mostrados por el animal es idéntico al presentado en humano. Modelos que presenten estos requerimientos son relativamente pocos, pero un ejemplo bien definido se encuentra para los procesos neurológicos (Fabricio, 2008).

Un modelo animal es considerado isomórfico si los síntomas del animal son similares pero la causa de los síntomas difiere entre el humano y el modelo. Sin embargo muchos modelos son homólogos los cuales pueden usarse en estudios de ciertos tratamientos de enfermedades en humanos (Hau, 2003).

La selección del modelo de animal depende de un número de factores relativo a la hipótesis de las pruebas y aspectos prácticos asociados con el proyecto y si el modelo animal seleccionado puede responder a cuestiones específicas del tratamiento y enfermedades del humano (Hau, 2003; Rand, 2005).

Clasificación de los Animales de Laboratorio de acuerdo al estado higiénico sanitario.

El diseño de las construcciones de animales se determina principalmente por la naturaleza de las actividades investigativas y productivas de la institución y los tipos de animales que van a ser criados.

El grado de protección de los animales de los agentes infecciosos es la mayor consideración en el diseño de las instalaciones. Para esta protección es necesario incluir el uso de la barrera sanitaria y un patrón especial del flujo del tráfico del personal y los materiales. Existen tres tipos básicos de construcciones de animales (Cardoso, 2000, 2007; Hrapkiewicz, 2007).

Categoría I: Animal Convencional.

Los animales convencionales se consideran aquellos animales que se crían y se mantienen sin barreras sanitarias adecuadas para impedir la introducción de microorganismos (instalaciones abiertas), por lo que están sujetos a nuevas infecciones. En estas instalaciones no existe un patrón especial de flujo de personal y materiales, y existe una sola salida para la entrada y salida de los animales. Deben estar libres de toda evidencia de enfermedades infecciosas especialmente transmisibles al hombre, tanto en el examen clínico como post – mortem. Libres de: *Salmonella* spp y *Shigella* spp

- *Mycobacterium tuberculosis*.
- *Yersinia pseudotuberculosis*.
- *Leptospira* spp.
- Dermatofitos.
- *Sarcoptes scabiei*.

- Virus de la *Coriomeningitis Linfocitaria* (LCM)

Categoría II: Animal criados en barreras limpias y sucias.

Son comparables a los animales convencionales mantenidos bajo condiciones sanitarias estrictas y estándares. Los mismos albergan una fracción inoculada de microorganismos no patógenos tomadas de la microbiota; deben mantener o ser del mismo *status* de la Categoría I y además estar libres de:

- *Listeria monocytogenes*
- *Bacillus piliformis*
- Estadíos intermedios de Céstodos y de Artrópodos parásitos obligados.
- Especies determinadas demandan la ausencia de los Virus: *Ectromelia spp* (Ratón) y *Myxomatosis spp* (Conejo).

En estas instalaciones se utiliza un patrón de tráfico para minimizar la contaminación cruzada de lo limpio y lo sucio.

Categoría III: Animal Barreras de Contención.

Libres de gérmenes patógenos, SPF.

Specific Pathogens Free, (SPF), su microbiota se controla y albergan solamente agentes no patógenos para la especie. Se mantienen en condiciones protegidas (sistemas cerrados) que poseen eficientes barreras sanitarias y se alojan en instalaciones que le garanticen su control microbiológico. Deben ser del mismo *status* de la Categoría II y además estar libres de:

- *Bordetella bronchiseptica*
- Todas las especies de *Pasteurella*

Todas las especies de Coccidias (*Eimerias spp*) y Helmintos patógenos

Además especies de animales determinadas demandan la ausencia de:

- *Streptobacillus moniliformis* (Ratones y Ratas)

- *Corynebacterium kutscheri* (*C. murium*) (Ratones)
- *Streptococcus pneumoniae* (Cobayo y Conejo)
- Todas las especies de Mycoplasmas (Ratones y Ratas)
- *Treponema cuniculi* (Sífilis del conejo Conejo)

En adición a las categorías genéticas de ratones existe una variedad de tipos ecológicos basados en el status microbiológico las cuales son:

"Animal Gnotobiótico con microbiota definida "

Los animales gnotobióticos con microbiota definida son comparables a los animales derivados de cesárea a los que se les introducen voluntariamente especies microbianas conocidas. Deben ser del mismo *status* de la Categoría III y además estar libres de:

- Estreptococos (excepto Grupo D)
- Neumococos
- Helmintos
- Protozoos patógenos
- Virus que afectan estas especies

Además determinadas especies demandan la ausencia de:

- Todas las especies de Mycoplasmas (Hámster y Cobayo)
- Fusiformis necrophorus* (Conejos)

Animal Libre de gérmenes, GF.

Los GFson animales que no albergan ninguna especie microbiana viviente detectable. Los mismos son el resultado del uso de sistemas cerrados estériles y son libres de todo organismo demostrable (virus, bacterias, hongos, parásitos y organismos saprófitos). Son conocidos como animales libres de gérmenes ("*Germ Free*") o los cuales son derivados por histerectomía (cesárea) o histerectomía aséptica, criados y mantenidos en un aislador mediante técnicas "Gnotobióticas".

Este esquema de clasificación por categorías se revisa regularmente y a pesar de algunos cambios menores en cuanto al establecimiento y definición de las entidades microbianas (bacterias, hongos, parásitos y virus) que deben o no estar presentes según la categoría específica el mismo resiste la prueba del tiempo (FELASA, 1995; Górska, 2000; HARLAN, 2002; Hrapkiewicz, 2007).

Condiciones para el mantenimiento y cría de Animales de Laboratorio.

Para mantener la salud del animal de experimentación y evitar errores en los resultados experimentales, se hace necesario un ambiente controlado y confortable. Sin embargo la posibilidad de controlar todas las variables para un mantenimiento óptimo es mínima. Es evidente que las exigencias ambientales pueden variar según la especie animal y los propósitos para los cuales los animales se usan, o sea, el protocolo experimental (Clough, 1984; CCAC, 1984, 1998; Claassen, 1994).

En la estandarización y control de los factores ambientales que afectan los animales de laboratorio existen dos factores específicos:

- El Macroambiente (Cuarto o local).
- El Microambiente (Cajas).

Entre estos ambientes pueden existir diferencias bien marcadas y por tanto, deben conocerse que las condiciones ambientales del macroambiente y el microambiente afectan directamente la respuesta de los procesos de laboratorio (Carissimi y cols., 2000; Hrapkiewicz, 2007; CEUA, 2008).

Los parámetros del ambiente se evalúan habitualmente al nivel del local del alojamiento, sin embargo, el más importante es el microambiente de la caja o jaula, porque las condiciones entre uno y el otro pueden variar considerablemente.

Los principales factores ambientales que afectan a los animales se clasifican en:

- Climáticos (temperatura, humedad, ventilación).
- Físicos-Químicos (iluminación, ruido, anestésicos, higienizantes, aire, presencia de contaminantes).
- Habitacionales (forma, tamaño y tipo de jaulas, densidad poblacional).
- Nutricionales (alimento, agua, esquema de administración de dietas).

- Microorganismos (patógenos específicos de cada especie).

Todos estos factores se controlan a través de la aplicación de las Buenas Prácticas de Producción (BPP) y conlleva al bienestar de los animales, así como a satisfacer los requerimientos particulares de la investigación en las cuales se utilizan los mismos (Melby y Balk, 1983; CCAC, 1993; Osorio, 2006; Finlay, 2009).

Alimentación.

En el estado de salud, el rendimiento y el metabolismo de los animales experimentales influye la composición de la dieta y los hábitos alimenticios. De esta forma la nutrición no sólo condiciona el bienestar de los animales sino también el resultado de los experimentos. Los estudios nutricionales se centran en alteraciones deliberadas de la dieta y en los efectos que éstas producen (Osorio, 2006).

Sin embargo, los resultados de algunos experimentos con animales se afectan de forma no intencionada por la composición de la dieta (Granados, 2000). El aspecto más importante de la formulación de las dietas experimentales es asegurar la presencia de todos los nutrientes esenciales en las concentraciones requeridas (Pérez, 2007). El suministro de alimento y agua para los animales se realiza a voluntad (Damon y cols., 1986; McIntosh y Staley, 1989; Coates y cols., 1992; Zuñiga, 1999).

Criterios deseables para la cama de contacto de los roedores.

Para las camas de contacto de los roedores se utilizan materiales que presenten las siguientes características.

- Absorba la humedad, exenta de polvo, no permita el crecimiento bacteriano, no comestible, no manche, no ocasione traumatismos, se pueda esterilizar.
- No forme productos indeseables después de la esterilización.
- Fácil de almacenar
- No sea desecante para los animales
- No contaminada, no nutritiva, desagradable al gusto, difícil de masticar o de guardar en la boca

- No tóxica, no maloliente, apropiada para la nidación y la incineración, fácil de obtener, relativamente barata, resistente al fuego
- No sea perjudicial y no presente peligro o riesgos para el personal (Kraft y cols, 1994; HARLAN, 2002).

La cama en las jaulas o cajas de los animales se cambia tan frecuentemente como sea necesario para mantener a los animales limpios, secos, sin mal olor y para mantener el control del amoníaco en los niveles aceptables, es decir, 25 ppm (Popka, 2001; Fabricio, 2008). Para los animales menores de laboratorio, se cambia la cama de las jaulas de una a tres veces por semana, en dependencia de variables tales como el tamaño de los animales, la densidad de la población, el tipo de jaula y el grado de producción de excrementos (CCAC, 2007; UE, 2007).

Cuarentena.

Se denomina al periodo de aislamiento previo a la incorporación de animales de origen externo desde el momento de su admisión hasta que desaparecen todos los riesgos (tensión o estrés, angustia o distres si lo hubiera, o trastorno de su salud, si existiera) para su correcto empleo. Este tiempo depende de la especie, del carácter de la transportación de los animales y de la atención especializada del Médico Veterinario (Pastor, 2006).

En la práctica, se puede considerar a un animal readaptado cuando los indicadores principales de su "biología normativa", en particular los bioquímicos y algunos fisiológicos, no difieren estadísticamente de los que poseía en la instalación de origen.

El periodo de cuarentena está determinado por varios criterios, la observación de los animales puede efectuarse en la instalación donde han sido recibidos o en una estación de cuarentena. Si durante ese período de observación se consideran clínicamente sanos y libres de cualquier enfermedad de la lista de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) por un veterinario oficial entonces los animales están readaptados al nuevo ambiente (OIE, 2005).

Los animales, durante el periodo de cuarentena o de readaptación, se manipulan al mínimo, y no se emplean métodos o procedimientos de identificación permanentes sobre el animal. La documentación de incidencia del periodo de cuarentena constituyen registros originales de cualquier investigación o validación (Capdevila y cols., 2007).

En este caso se disponen de instalaciones separadas para aislar los animales que por presentar síntomas o ser sospechosos de mala salud puedan representar un peligro para el hombre o para los otros animales, incluso presentando los animales buena salud se someten a un periodo de climatización antes de ser usados en el experimento con el objetivo de que los animales se recuperen de la transportación, se evalúen sus condiciones de salud, se adapten al nuevo ambiente y se prevengan las enfermedades. (Hau, 2003; Hrapkiewicz, 2007).

Categorías genéticas y nomenclatura de los ratones de laboratorio.

Taxonomía.

Clase: *Mamalia*

Orden: *Rodentia*

Familia: *Muridae*

Género: *Mus*

Especie: *musculus*

Generalidades.

Existen en el mundo unas 500 líneas entre consanguíneas y no consanguíneas. Los adultos pesan usualmente entre 25 y 40 g con una variedad de colores incluyendo albinos, negros carmelitas agutí gris y PIEBALD (Besselsen, 2003; Hrapkiewicz, 2007; Pérez, 2007).

La mayoría de los ratones de laboratorio son albinos, con los ojos de color rosado. De todos los animales de laboratorio, los roedores son los que más se utilizan y representan cerca del 80 % del total de vertebrados que se destinan a la experimentación (Pérez, 2007; Hrapkiewicz, 2007).

El ratón es el animal que más se utiliza en las pruebas de diagnóstico e investigación. Su pequeño tamaño, vida relativamente corta, alta eficiencia reproductiva, adaptación a la explotación en grandes colonias, amplia variabilidad genética y la susceptibilidad a agentes químicos y microbianos, hacen de este animal un modelo apropiado para la investigación en diversas disciplinas, tales como embriología, etología, genética, gerontología, microbiología, oncología, etc. (Osorio y Cardozo de Martinez, 2000; Popka, 2001).

El pequeño tamaño corporal permite su mantenimiento en forma eficiente y económica, pero dificulta la administración de drogas, y la colecta de líquidos corporales, así como también las técnicas quirúrgicas.

Origen.

El ratón doméstico (*Mus musculus*) tiene una amplia distribución mundial y se encuentra asociado al hábitat humano. Todas las cepas de ratones de laboratorio existentes derivan de una cría selectiva del *Mus musculus* tipo salvaje. La cría de ratones por los biólogos condujo a una amplia variabilidad genética, lo que despertó el interés para emplearlo como animal de laboratorio, hecho que iniciaron los científicos a fines del siglo XIX (Osorio y Cardozo de Martinez, 2000).

En 1909 Clarence Little obtuvo ratones con diferente color de pelaje: diluido (d), carmelita (b) y no-agutí (a); creando así la primera cepa endocriada reconocida. En 1929 “Jackson Memorial Laboratory” se establece como centro de estudio de genética de mamíferos. Little en 1960 desarrolla el ratón desnudo, del inglés “nude”, el cual no posee timo funcional (inmunodeficiente). En este mismo año surge el diseño de “Bioterios en Barrera” con control ambiental (SPF). En 1963 Surge la Guía de la NIH y en 1980 comienza el desarrollo de Transgénicos y Knockouts.

Las principales categorías genéticas de ratones utilizados en las investigaciones biomédicas son:

- Líneas no consanguíneas.

- Líneas consanguíneas: Líneas consanguíneas congénitas, Líneas consanguíneas coisogénicas, Líneas consanguíneas recombinantes y Líneas segregantes.
- Híbridos F1.
- Mutantes.

Líneas no Consanguíneas: Colonias cerradas, creadas artificialmente y compuestas por individuos genéticamente variables (heterocigóticos). Las mismas tienen amplio genofondo, alta variabilidad, buena capacidad reproductiva y resistencia a los cambios ambientales.

Líneas Consanguíneas: Son el resultado de 20 ó más generaciones consecutivas de apareamiento hermano-hermana, en la cual todos los individuos descienden de una pareja antecesora común. Como resultado de este patrón de apareamiento, virtualmente todas las variaciones genéticas son eliminadas.

Las líneas consanguíneas son muy utilizadas en las investigaciones biomédicas por poseer las siguientes características: son animales homocigóticos, son individuos genéticamente idénticos. La homocigocidad se refiere a la uniformidad fenotípica. Las líneas consanguíneas se mantienen genéticamente constantes por largos períodos de tiempo.

Híbridos F1: Un híbrido F1 es la primera generación del cruce entre individuos de dos líneas consanguíneas diferentes, por lo tanto ellos son heterocigóticos para todos los loci en los cuales sus progenitores tienen alelos diferentes. Los híbridos F1 son muy valiosos en las investigaciones y en algunos experimentos son más apropiados que las líneas consanguíneas.

Mutantes: Los modelos animales que presentan una patología hereditaria homóloga a aquellas observadas en el hombre son las que se estudian como líneas mutantes patológicas.

La calidad genética de los animales de laboratorio es un factor determinante en el resultado exitoso de los experimentos donde participan como biomodelos. El programa de monitoreo genético es un sistema de trabajo que se ocupa del aspecto genético de

manera integral, lo cual va desde los factores a manejar directamente en las colonias hasta la confirmación de la calidad genética mediante técnicas de laboratorio (Cardoso, 2007).

Un óptimo mantenimiento y manejo de la colonia es la primera línea de defensa y protección de la integridad genética que además no es sustituible por ningún monitoreo ni control genético por completo y sofisticado que sea.

Descripción del Biomodelo Experimental B6D2F1.

El ratón B6D2F1 es un híbrido de la primera generación del cruce entre individuos de dos líneas consanguíneas diferentes tales como, el ratón hembra C57Bl/6 y el macho DBA/2 por lo tanto los F1 son heterocigóticos para todos los locis en los cuales sus progenitores tienen alelos diferentes (Arriaga, 2002).

Los híbridos F1 son muy valiosos en las investigaciones y en algunos experimentos son más apropiados que las líneas consanguíneas, por poseer las siguientes características:

- *Uniformidad genética y fenotípica:* Los híbridos F1 a pesar de ser heterocigóticos son genéticamente idénticos, lo que le proporciona una gran uniformidad.
- *Vigor híbrido:* Esta característica le proporciona una gran resistencia a enfermedades, mejor supervivencia al estrés, longevidad y una elevada productividad.

Para nombrar un Híbridos F1 en primer lugar se nombra la madre y en segundo lugar el padre. Ej.: C57BL/6 x DBA(2)F1 Nombre Completo: B6D2F1.

Principales usos del B6D2F1.

Es el modelo ideal para los estudios de carcinógenesis porque acepta injertos de tumores, piel, ovario, etc. de ratones de cualquiera de sus líneas parentales. Se utiliza en la inducción de algunas mutaciones, en investigaciones de transgenesis y transferencia de embriones, modelo prometedor para el estudio de úlcera gástrica, es usado como modelo en la Tuberculosis Pulmonar Latente (Arriaga, 2002). Además se utiliza en

ensayos de inmunodepresión para comprobar la efectividad de tratamientos con diferentes antibióticos con inducción o no con radiaciones de cobalto 60 (Brook, 2005).

El ratón B6D2F1 está listado en el Comité Internacional de Estandarización de la Nomenclatura Genética (Festing y Van Zutphen, 1997) que estableció las reglas de nomenclatura para las líneas consanguíneas, líneas no consanguíneas, híbridos F1 y mutantes de ratas y ratones con el objetivo de:

- Minimizar cambios genéticos en el transcurso de la propagación de las líneas.
- Auxiliar a los investigadores en la elección adecuada de líneas a utilizar y en la comunicación con los productores de tales líneas.

Monitoreo Genético de los parentales y de la línea B6D2F1.

Afianzando el concepto de reactivo biológico que tiene los biomodelos los aspectos relacionados con la homogeneidad y/o definición genética de los animales son de incuestionable importancia. No es posible utilizar en el laboratorio un animal cuya genética no sea conocida o completamente definida, puesto que podría responder a condiciones desconocidas por el investigador y afectar de ese modo sus resultados (Cardoso, 2007).

Es requisito universalmente exigido que el animal utilizado en investigación biológica o biomédica se obtenga en un centro de producción certificador, resulta inadmisibles la utilización de animales de procedencia no certificada. Las características genéticas son relevantes para seleccionar los animales de acuerdo con los objetivos experimentales.

El monitoreo genético de los bancos consanguíneos se realiza mediante la supervisión del trabajo de manejo genético llevado a cabo en cada uno de los núcleos y la realización de un monitoreo por técnicas de laboratorio.

El resultado del monitoreo genético será el parámetro fundamental para seleccionar una pareja que dará origen al nuevo banco genético. Por tanto será la antecesora común de todos los animales que se produzcan de la línea monitoreada, con el propósito de descubrir tempranamente la aparición de mutaciones o errores en la elección de los reproductores (Cardoso, 2007).

En el caso del B6D2F1 se le realiza un examen fenotípico determinando color de la capa, su status físico y pruebas de laboratorio tales como hematología, bioquímica, parasitología microbiología y virología para verificar las especificaciones de la línea.

Condiciones Generales y requisitos específicos del Transporte de Animales.

Muchos estudios han demostrado que el transporte provoca cambios significativos en los parámetros utilizados para determinar el estrés y que el periodo de tiempo necesario para que estos vuelvan a su valor basal varía. Los ratones necesitan entre 24-48 h tras el viaje para la aclimatación dependiendo de la duración del viaje (Landi, 1982; Aguila y cols., 1988, Drozdowicz y cols., 1990).

Sin embargo en un estudio que controlaba indicadores del comportamiento debido al estrés demostró que los ratones no estaban aclimatados a los cuatro días tras ser transportados de una habitación a otra (Scahaw, 2002; Nom, 2007).

En la exportación de animales vivos debe tenerse en cuenta los siguientes aspectos: legislación, plan de viaje, aclimatación y aptitud para el viaje, tipo de vehículo, formación y competencia del transportista, contenedor y su medio ambiente.

La exportación de animales debe cumplir siempre los requerimientos de la legislación vigente de cada país donde transitan los animales, será responsabilidad del expedidor asegurarse que se conozcan y se cumplan todos los requerimientos legales tales como:

1. Verificar que la especie a transportar no se encuentre bajo alguna restricción de protección, ya sea nacional o internacional. Se debe contar con la documentación necesaria, certificados sanitarios, permisos de salida e ingreso del país de destino.
2. Verificar que el embalaje de los animales cumpla con los principios básicos contenidos en la Reglamentación de Animales Vivos de la Asociación de transporte aéreo Internacional. (IATA) tocantes a seguridad, protección y confort de los animales.
3. Planificar junto con el transportista el transporte por la ruta más directa posible. Que los animales que forman la expedición gocen de buena salud y estén en buenas condiciones para el transporte (AATA, 2000; NAS, 2006)

A la hora de la preparación de un envío de animales se debe tener en cuenta todas las condiciones del viaje para garantizar el bienestar en todas las etapas del mismo, se deben incluir datos de contactos de las personas que puedan intervenir en caso de urgencia o ayudar en las etapas de viaje (LASA, 2005; NAS, 2006).

El espacio para el transporte de animales vivos debe haber sido confirmado para toda la ruta, antes de que sea aceptado por el transportista. Cuando en el transporte deban intervenir más de un transportista, los animales vivos no deben ser aceptados para su transporte, hasta que se hayan hecho todos los arreglos previos y este la confirmación de los espacios por parte de todos los transportistas participantes (LASA, 2005; NAS, 2006; BOE, 2007). Cuando se transportan animales vivos, el código de manipulación AVI debe tener prioridad sobre todos los otros códigos, las reservaciones se efectuarán sobre las rutas más directas con el fin de minimizar al máximo los aterrizajes y despegues, evitando en lo posible los cambios climáticos violentos que podrían perjudicar a los animales.

Según el tipo de viaje, la especie, el estado microbiológico y el trayecto, se necesitaran diferentes combinaciones de los documentos que acompañan el envío, tales como: certificado aéreo de la empresa que hace el envío, licencia de exportación del servicio veterinario, facturas definitiva para los servicios de aduana, informe del estado de los animales individuales o en grupo, certificado sanitario, controles sanitarios, diario de viaje, lista de contacto con números telefónicos, lista de embalaje, plan de viaje y certificado de transporte animal (LASA, 2005; NAS, 2006). Toda la documentación necesaria debe prepararse en tiempo y de acuerdo a las normas vigentes antes del viaje, estableciéndose documentalmente las responsabilidades, funciones y comunicación.

Los contenedores para el transporte deben prepararse por adelantado antes de la salida. A los animales se les debe proporcionar cama adecuada y suficiente agua y comida. Para roedores se recomienda la utilización de contenedores con aberturas que maximicen la ventilación y visibilidad. Es importante que las inspecciones de veterinaria incluyan una inspección completa del bienestar animal y de las condiciones del vehículo que transporta los animales (AVMA, 2002; Maher, 2004; Benham, 2006).

Cada contenedor para el transporte deberá estar correctamente identificado de la siguiente manera:

- Nombre del centro de destino.
- Nombre común y científico del o los animal(es),
- Cantidad de ellos dentro del embalaje.
- Sexo y peso.

Antes de transportar los animales, deberán hacerse las revisiones apropiadas para garantizar que el destinatario efectivamente espera los animales, y que está preparado para recibirlos. Cuando el viaje comience fuera de las horas de oficina, será necesario asegurarse que el personal de seguridad del aeropuerto de destino este alertado sobre el envío y que sabe a quién debe contactar .Deberán tenerse en cuenta los puntos de contingencia, para poder establecer los planes de emergencia en caso de: retrasos en el envío, abandono de la ruta elegida, avería del vehículo, pago de impuestos y mortalidades ocurridas durante el viaje. (LASA, 2005; NAS, 2006).

Tanto el expedidor como el destinatario deben estar de acuerdo en las condiciones del transporte, así como el momento de salida y llegada, de manera que el destinatario pueda tener dispuestas las instalaciones apropiadas para los animales con alimento fresco, agua de bebida, cama y los mismos deben ser inspeccionados por un personal competente. Después del viaje es imprescindible que se respete el periodo estimado de aclimatación de los animales antes de ser utilizados en investigaciones (LASA, 2005; NAS, 2006).

Los animales para el envío deben estar en optimas condiciones de salud esto es importante, no solo por razones de bienestar sino también porque el estrés durante el transporte puede dar lugar a que las infecciones latentes se vuelvan clínicamente aparentes. Antes del embalaje los animales deben ser inspeccionados y se consideran no aptos para el viaje si se observa cualquier desviación respecto al comportamiento normal de la especie o el estado de salud (AVMA, 2002; LASA, 2005; NAS, 2006; Capdevila y cols., 2007).

El confinamiento en un contenedor, las variaciones en las condiciones medioambientales, y el movimiento afectan a las diferentes especies de manera distinta. Deberá abastecerse a los animales con suficiente comida y líquido, deberá

prestarse atención especial a la duración del viaje con el fin de evitar que el embarque de los animales se produzca en condiciones climáticas extremas, conocer las condiciones reales del itinerario del viaje y que los vehículos que transporten los mismos sean adecuados para tal fin (Obernier, 2006).

Para salvaguardar el bienestar animal en cada viaje resulta esencial que se garantice que el personal se formó adecuadamente, y que tiene la actitud y competencia adecuada para el manejo y el cuidado de los animales. De forma ideal el que está a cargo del bienestar del animal debe acompañar al envío de los animales. Es importante que cualquier miembro del personal que maneje animales durante el transporte debe haber completado un curso de formación establecido para estos casos (NAS, 1991; Ochoa, 2001; LASA, 2005).

Los contenedores que contienen animales deben ser trasladados cuidadosamente sin sacudidas o choques violentos, ruido excesivo o vibraciones intentando mantenerlos lo más posible en posición horizontal. Cuando haya que transportar muchos animales se debe mantener la separación adecuada entre los contenedores en la zona de carga de manera que haya circulación de aire entre ellos. Los conductores tienen que estar conscientes de la necesidad de inspeccionar los contenedores (LASA, 2005; NAS, 2006).

Los contenedores que se utilizan para el transporte de animales deben ser adecuados para el viaje y las especies transportadas. Un contenedor ideal mantiene a los animales cómodos y con el mínimo estrés durante el viaje y deben proveerse con suficiente agua, comida y cama, poseer ventilación adecuada. Además deben construirse de tal manera que los animales no puedan abandonarlos, no se lesionen durante la carga y salida del contenedor, que puedan desinfectarse con facilidad, que los animales y sus provisiones puedan inspeccionarse sin abrir el contenedor (Maher, 2004).

El diseño habitual de un contenedor para transporte de pequeños animales de laboratorio es una caja rectangular con la forma y dimensiones dictadas específicamente para cada especie y cepa. Cuando se utilizan cajas rectangulares se diseñan normalmente con un dispositivo que garantice una buena ventilación entre las cajas cuando se apilan juntas. Una ventilación adecuada es esencial. Los respiraderos

para el aire deben estar situados al menos en dos lados contrarios del contenedor (LASA, 2005; NAS, 2006).

Existen una gran variedad de materiales disponibles para la construcción de los contenedores. Se utiliza plástico, cartón ondulado o polipropileno, otros son de plástico y fibra de vidrio. La superficie interna de los contenedores puede recubrirse con plástico o cera para proporcionar protección.

Los contenedores de cartón se utilizan para transportar ratones, los mismos no son reutilizables porque se destruyen por esterilización por calor en una autoclave (OIE, 2005).

Los animales se deben transportar en parejas armoniosas que sean compatibles. Los animales de un contenedor deben proceder de la misma colonia y ser del mismo sexo y edad similar. Las parejas de reproductores y tríos y camadas deben viajar en el mismo contenedor. El número de animales en un contenedor debe ser tal que los animales viajen cómodamente. No deben dejarse los animales desentendidos durante el viaje y la responsabilidad es del expedidor hasta que se realice la entrega (Prescott y cols., 2004).

Sea cual sea el método de transporte de los animales se deben sacar lo antes posible de sus contenedores tras llegar al lugar de destino, deben inspeccionarse sanitariamente y alojarse en un lugar previamente preparado para ello. Durante el viaje los animales se acompañan de los documentos necesarios como su historial médico individual, para garantizar la identidad de los animales.

Transferencia de tecnología.

Tendencias Actuales.

La transferencia de tecnología se refiere a las ventas o concesiones hechas con ánimos lucrativos del conjunto de conocimientos que permite al comprador (Stanzick, 2000):

- Fabricar en las mismas condiciones que el vendedor o licenciante.
- Innovar a partir del conocimiento generado mediante Investigación +Desarrollo.

Patel plantea que desde el punto de vista de la industria farmacéutica, la transferencia de tecnología se refiere a los procesos que son necesarios para el progreso satisfactorio. Esto abarca desde el descubrimiento del medicamento, el desarrollo del producto y la ejecución de los ensayos clínicos hasta la comercialización a escala total. Puede también definirse como el proceso en el cual el personal que desarrolla la tecnología la pone a disposición de un socio comercial que va a explotarla (Patel, 2003).

La Transferencia Tecnológica (TT) puede verse como un proceso dinámico que gestionado adecuadamente puede conducir a fortalecer las capacidades tecnológicas de la empresa (Faloh y Fernandez, 2006; Herrera, 2008).

La transferencia de tecnología abarca el conjunto de las siguientes acciones: venta o cesión bajo licencia de cualquier modalidad de la propiedad industrial; transmisión de conocimientos técnicos especializados y experiencias bajo la forma de estudios de fiabilidad, planos, modelos, manuales, formulas detalladas o instrucciones específicas; transmisión de conocimientos tecnológicos para adquirir, instalar y utilizar maquinas, materiales o bienes intermedios; uso de materiales destinados a la formación de personal y servicios, tanto de consultoría como de gestión, prestados por personal especializado (Tápanes y Rodríguez, 2001).

Se puede apreciar que resultan objeto de transferencia no solo elementos relacionados directamente con equipamiento (patentes, diseños industriales, manuales, especificaciones, etc.), sino también relacionados con el saber hacer o "Know How". La verdadera transferencia de tecnología, más que una adquisición de una capacidad productiva, implica la transferencia de una capacidad tecnológica para usar adecuadamente, adaptar y mejorar la tecnología comparada.

Sin transferencia de tecnología no hay posibilidad de agregar valor a los conocimientos y prototipos en la forma de productos nuevos o mejorados, los que a su vez serán valorados por consumidores o usuarios. Para tener éxito en las mismas, es importante tener en cuenta tanto los factores regulatorios como los técnicos, es decir, los criterios de aceptación y las especificaciones deben ser claras y por escrito.

Las instalaciones, equipos, instrumentación y laboratorios deben ser los adecuados y estar calificados. El personal debe estar adiestrado y existir la documentación para

probarlo. Los protocolos y reportes de transferencia deben ser aprobados por la unidad de entrega y la unidad que recibe. A su vez es necesario capturar la experiencia y el conocimiento adquirido durante el proceso de transferencia por escrito, contar con la historia documentada del desarrollo del proceso y de los métodos, identificación y razonamiento de parámetros y especificaciones críticas.

Los factores regulatorios y técnicos son necesarios tenerlos en cuenta para lograr el éxito en las transferencias tecnológicas (Agrai y Yany, 2005). Los factores regulatorios incluyen los criterios de aceptación y las especificaciones, las cuales deben ser claras y por escrito; las instalaciones, equipos, instrumentación y laboratorios adecuados y calificados; los protocolos y reportes de transferencia aprobados tanto por la unidad que entrega y la unidad que recibe; así como los datos, evidencia documentada de que el producto, proceso o método fue exitosamente reproducido de acuerdo a los criterios.

En cuanto a los factores técnicos, se refieren principalmente a la historia documentada del desarrollo del proceso y de los métodos; a capturar la experiencia y el conocimiento adquirido durante el proceso de transferencia por escrito; a la identificación de los parámetros y especificaciones críticas, así como al razonamiento adecuado para las mismas.

Si durante el proceso de transferencia se logran establecer las bases para el desarrollo de los estimados reales de tiempo y recursos, si existen las bases técnicas para un proceso reproducible tanto a escala piloto como productiva y están fundamentadas las bases técnicas, analítica, ingenieril y operacional para la producción de lotes consistentes en la nueva instalación (Gerson, 1998) se logrará el éxito total de la transferencia una vez se halla documentado totalmente la misma.

La transferencia de la documentación es un elemento importante en la transferencia de cualquier tecnología, debe estar acorde a los propósitos con datos disponibles y traceables, y supervisada por aseguramiento de la calidad. Comprende los reportes de investigación y desarrollo, el expediente de especificaciones del producto, el plan de transferencia de tecnología, el reporte de la transferencia y la verificación de los resultados de la transferencia tecnológica.

Entrenamiento.

El Centro Estatal para el Control de los Medicamentos (CECMED) define como uno de los factores determinantes en toda industria es que cuente con el personal idóneo, capaz de desempeñar cada una de sus responsabilidades esto pondrá en juicio el prestigio de las empresas que están vinculadas a la transferencia, las cuales deben contar con un número suficiente de trabajadores que posean la experiencia y la calificación necesarias. Los requisitos de calificación para todo el personal deben estar definidos y documentados, de acuerdo a las características y complejidad de la actividad que desempeñe (CECMED, 2004, 2006).

Es por ello que en el mundo éste tema no es cosa del pasado. Para la implementación de un Sistema Selectivo del personal, se debe contar con las personas adecuadas, que reúnan los conocimientos, habilidades, experiencias, aptitudes y valores pertinentes en los lugares y en el momento preciso.

Esto quiere decir que cada institución contará con personal suficiente el cual será seleccionado sobre la base de su idoneidad, calificación técnica, entrenamiento, experiencia y/o habilidad demostrada para el desarrollo de las funciones que se le asignen. Para lograr esto será necesario realizar de forma periódica un entrenamiento y capacitación con la finalidad de garantizar que el mismo sea capaz de cumplir con las responsabilidades tareas que se le asignen. De ahí la importancia de que cada institución cuente con programas de capacitación y supervisión.

Contratos.

La TT es muy importante para todos los Estados y para las empresas. En materia de propiedad intelectual es también de gran valor e importancia. Se destaca la cesión y licencia de patentes y secreto empresarial (*saber hacer*) como las formas más comunes de realizar la transferencia. La realización de los contratos es una parte imprescindible en todo ese proceso de transferencia. Un acuerdo de TT con buenas perspectivas de tener éxito, con unas partes adecuadas y con una tecnología también adecuada, pero plasmado en un contrato mal regulado, puede tener éxito solo parcialmente. Además, puede ser causa de muchos problemas en el futuro (Agrai y Yany, 2005).

Los contratos de TT son aquellos mediante los cuales se trasmite el uso o se autoriza la explotación de patentes, marcas y modelos industriales; se suministran conocimientos técnicos y “*saber hacer*”, se provee ingeniería para la construcción de instalaciones industriales; o para la fabricación de productos; o se prestan servicios de asistencia técnica, de administración de empresas, de asesoría y de consultoría.

En Cuba, los contratos de TT se asocian fundamentalmente con la inversión extranjera regulada por la Ley No. 77 y la creación de empresas mixtas o los contratos de asociación económica internacional, en los que generalmente el capital extranjero lo constituye la transferencia de la tecnología. Los contratos de TT no son uniformes, ya que los mismos se adaptan a las particularidades de cada caso para los que pueden ser utilizados (Valdés, 2005).

El uso de Animales de Laboratorio en los ensayos de potencia.

La precisión de un método analítico expresa la cercanía entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestreos de una muestra homogénea bajo las condiciones prescritas. Normalmente la precisión se expresa como varianza, desviación estándar o coeficiente de variación de una serie de mediciones y deben ser reportados, junto al intervalo de confianza, para cada tipo de precisión estudiada (ICH Topic Q2(R1), 2005).

El parámetro de reproducibilidad expresa la precisión entre laboratorios. Describe la máxima variabilidad de un procedimiento de ensayo ya que incluye diferentes laboratorios. La reproducibilidad debe ser considerada en caso de la estandarización de un método analítico (ICH Topic Q2(R1), 2005).

Se implementó el método alternativo que recomienda la Farmacopea Europea utilizando ratones normocitémicos hembras de la línea B6D2F1, de 8 semanas de edad a razón de 8 animales por dosis. Este método presenta algunas ventajas como son: menor tiempo de duración, elimina el uso de sustancias radiactivas, disminuye los costos por ensayo, así como reduce el nivel de estrés al que son sometidos los animales de experimentación por el método de ratones policitémicos (Kawamura y cols., 1991; Hayakawa y cols., 1992), cumpliendo de esta manera con el concepto de alternativa a la experimentación animal basado en el principio de la 3Rs.

