



PROTOCOLO PARA LA IMPLANTACIÓN DE UN ESTUDIO DE BIENESTAR ANIMAL EN LÍNEAS DE RATÓN ALTERADAS GENÉTICAMENTE

ANTECEDENTES

El RD 53/2013 establece el requerimiento de contar con un proyecto autorizado para la creación y/o mantenimiento de líneas alteradas genéticamente (AG). Los animales genéticamente alterados incluyen los animales genéticamente modificados (transgénicos, Knock-out, Knock-in, CRISPR/Cas9...) así como las mutaciones naturales e inducidas.

Según la *Guía práctica para la implementación de la Directiva 2010/63 aplicada a los animales genéticamente alterados*¹, el proyecto de “**creación**” de líneas AG finalizará cuando la línea esté ESTABLECIDA. Para considerar que una línea está establecida hacen falta dos requisitos:

1) *Que la transmisión de la alteración a la siguiente generación sea estable*: se han de estudiar como mínimo dos generaciones de cría.

2) *Que se haya realizado un estudio de bienestar*: para determinar si la alteración genética tiene algún efecto sobre el bienestar de los animales.

A nivel práctico, no se puede considerar que la línea está establecida hasta haber realizado este estudio de bienestar animal y por tanto todos los animales que se generen deben ser incluidos en las estadísticas, tengan o no fenotipo dañino.

Una vez realizado el estudio de bienestar, si se deduce que pueden producirse animales que experimenten dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero equivalente o superior al causado por la introducción de una aguja, será necesario la autorización de un proyecto de “**mantenimiento**” de líneas AG.

OBJETIVO

Establecer una guía general que permita el estudio de bienestar de las líneas AG en el Servicio de Animalario del CBMSO, con el objetivo de realizar un informe final de cada una de ellas. Este informe sería como un “pasaporte” de la línea y tiene las siguientes ventajas:

- Evitaría tener que pedir un proyecto en los casos en los que la línea no desarrolle fenotipo adverso.
- Se podría reducir la severidad del proyecto si se conoce de antemano en qué momento se produce la alteración del bienestar de la línea y podemos poner las medidas adecuadas para evitarlo.
- Se facilitaría el intercambio de líneas mutantes entre investigadores, evitando que tengan que solicitar un proyecto para llevar a cabo el establecimiento de la línea.
- Se reduciría el número de animales necesarios, al no tener que realizar el establecimiento de la línea en cada uno de los centros.



ESTUDIO DE BIENESTAR DE LÍNEAS ALTERADAS GENÉTICAMENTE

Está basado en los protocolos que se han desarrollado en los consorcios internacionales². Es una guía general, que deberá ser adaptada a las particularidades de cada línea. Es importante resaltar la necesaria colaboración con los técnicos y cuidadores del animalario, ya que son los que observan los animales a diario y son los primeros en detectar alteraciones de los mismos.

El estudio se compone de los siguientes requisitos:

1.- Se planteará el fenotipo esperado y en qué fases del desarrollo y momento de vida se espera que afecte al bienestar.

2.- Se realizará en animales de al menos la segunda generación (F2 en adelante) o cuando se compruebe que la transmisión de la alteración genética sea estable.

3.- Se recogerán como mínimo datos de los animales a tres edades: neonatos, al destete (21 días aprox.) y en edad madura (2 meses aprox.).

Nota: a estas fases se añadirán las que sean necesarias si se espera que el fenotipo pueda aparecer en otras edades. Por ejemplo, en ratones que desarrollan tumores mamarios a partir del destete se realizarán evaluaciones con palpaciones mamarias en diferentes etapas tras el destete.

4.- Se recogerán datos de un mínimo de 7 machos y 7 hembras tomadas de al menos dos camadas diferentes, incluyendo animales wild type y alterados genéticamente.

OBSERVACIONES EN NEONATOS

Tras el nacimiento, no es conveniente manipular a los animales, por lo que las observaciones se realizarán con la menor intervención posible. Se observarán los siguientes aspectos:

- a) Color: su alteración puede indicar alteraciones tales como anemia, alteraciones de la circulación...
- b) Actividad: se evaluará la movilidad, reflejos de posición, etc.
- c) Presencia de leche en el estómago (*milk spot*): permite saber si los animales se alimentan bien y si la madre tiene alteraciones en la lactancia o el cuidado de la camada.
- d) Características de la camada: se contabilizará el tamaño de la camada y se evaluará su desarrollo, si ha crías que mueren apuntar de qué sexo son, a qué edad se mueren, si el crecimiento es homogéneo...
- e) Anotar cualquier otra observación de interés



OBSERVACIONES TRAS EL DESTETE

Como mínimo al destete y a los dos meses de edad se observará lo siguiente:

- a) Apariencia general
- b) Tamaño, conformación y crecimiento
- c) Pelaje
- d) Comportamiento
- e) Signos clínicos
- d) Tamaño relativo
- d) Mortalidad y necropsias

REGISTRO DE LOS DATOS

Todas las anotaciones que se realicen para cada animal deben seguir definiciones objetivas, simples y claras. Se anotará la fecha y la persona que realice la observación.

Se puede encontrar nomenclatura estandarizada para la descripción de signos clínicos^{3,4}.

En algunas de las observaciones se puede dar una puntuación numérica para indicar la gravedad. Por ejemplo, si vemos diarreas, podemos puntuar de 1 a 3 para indicar la gravedad de la misma.

En el Anexo de este documento se incluyen tablas para la recogida de los datos.

Para el modelo de informe final se puede utilizar el del anexo I de la referencia bibliográfica (1).

BIBLIOGRAFÍA

1. https://secal.es/wp-content/uploads/2018/03/GT_Animales-Geneticamente-alterados-actualizado.pdf
2. https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/corrigendum.pdf
3. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25957286/>
4. <http://mousewelfareterms.org/doku.php>



ANEXO I. OBSERVACIONES EN NEONATOS

Nombre de la línea:	
Usuario:	

Fecha:

.....

Responsable:

.....

Observaciones	Comentarios
Color	
Actividad	
Milk spot	
Tamaño camada	



ANEXO II. OBSERVACIONES TRAS EL DESTETE

Nombre de la línea:	
Usuario:	

Nº animales observados	
Total:	
Machos:	
Hembras:	

OBSERVACIONES	TRAS DESTETE		2 MESES		OTROS	
	Fecha		Fecha		Fecha	
Apariencia general						
Tamaño, conformación y crecimiento						
Pelaje						
Comportamiento						
Signos clínicos						
Tamaño relativo						
Mortalidad y necropsias						
Otros						
Responsable						