

Gaiker

MEMBER OF
BASQUE RESEARCH
& TECHNOLOGY ALLIANCE

SERVICIOS TECNOLÓGICOS AVANZADOS | BIOTECNOLOGÍA

BIOTECNOLOGÍA. SERVICIOS TECNOLÓGICOS AVANZADOS

- ▶ ADME-Tox
- ▶ ENSAYOS DERMO-COSMÉTICOS
- ▶ NANOSEGURIDAD

- ESTUDIOS *IN VITRO* DE IRRITACIÓN Y CORROSIÓN
- ESTUDIOS *IN VITRO* CON FRANZ DIFFUSION CELLS
- ESTUDIO DE FOTOTOXICIDAD *IN VITRO*
- ESTUDIOS DE GENOTOXICIDAD *IN VITRO*
- ESTUDIOS DE MICROSCOPIA CONFOCAL EN CÉLULAS, EXPLANTES DE PIEL Y NANOPARTÍCULAS
- ESTUDIOS DE EFICACIA ANTIBIOFILM
- ESTUDIOS DE EFICACIA ANTIMICROBIANA DE MATERIALES , PINTURAS y BARNICES
- ESTUDIOS DE EFICACIA ANTIMICROBIANA DE PRODUCTOS DESINFECTANTES
- TEST CHALLENGE – ENSAYO DE LA PROTECCIÓN ANTIMICROBIANA DE UN PRODUCTO DERMO-COSMÉTICO (UNE 11930:2012)
- AUTENTIFICACIÓN DE ESPECIES ANIMALES POR TÉCNICAS MOLECULARES
- DETECCIÓN ESPECÍFICA DE SECUENCIAS GENÉTICAS MEDIANTE PCR A TIEMPO REAL
- DESARROLLO DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE CROMATOGRFÍA LÍQUIDA
- ANÁLISIS DE RIESGOS DE NANOMATERIALES

Desde 1998 en GAIKER llevamos a cabo estudios *in vitro* de regulatoria que permiten valorar la seguridad tanto de principios activos como de productos finales.



▶ **Bioequivalencia**

- Test de liberación *in vitro* de productos semisólidos, IVRT (FDA-SUPAC-SS)

▶ **Distribución**

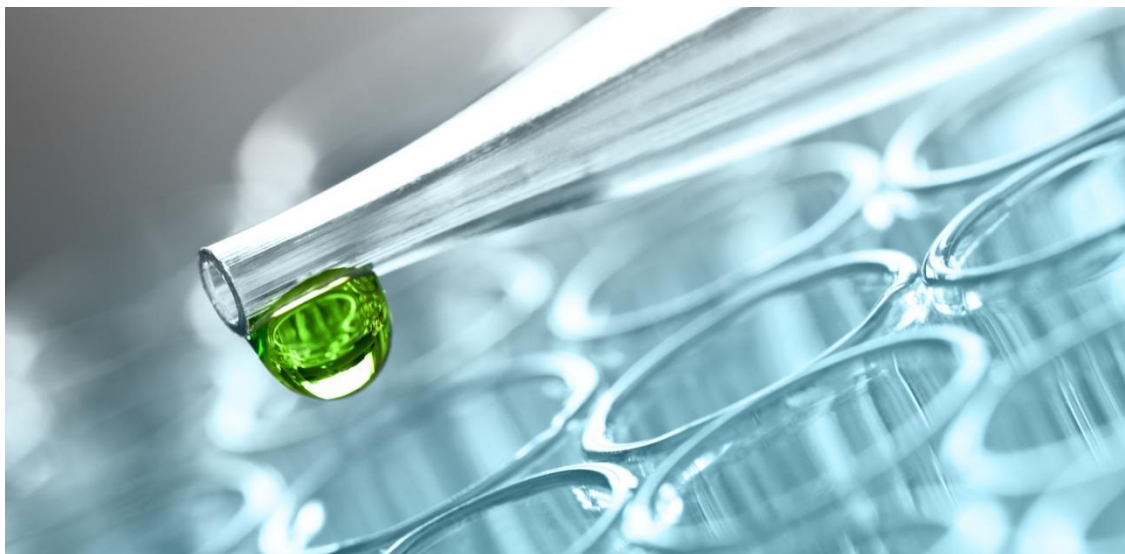
- Solubilidad acuosa
- Estabilidad química en fluido intestinal
- Estabilidad química en fluido gástrico
- Estabilidad en plasma humano
- Unión a proteínas plasmáticas

▶ **Absorción *in vitro***

- Permeabilidad pasiva. Pampa
- Permeabilidad intestinal. Modelo Caco-2
- Permeabilidad en barrera hematoencefálica
- Permeabilidad en epitelio pulmonar humano
- Absorción dérmica (OECD 428)

▶ **Metabolismo *in vitro***

- Estabilidad metabólica
- Identificación y caracterización de metabolitos
- Fenotipado enzimático
- Ensayos interacción fármaco-fármaco:
 - Inhibición citocromo CYP450
 - Inducción CYP450
 - Inhibición transportadores





Garantía de Calidad

Certificado de Cumplimiento de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) otorgado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios para realizar estudios de toxicidad *in vitro* en productos farmacéuticos

▶ Análisis toxicológico

- Ensayos viabilidad (MTT, XTT, RN, AB, LDH, MTS)
- Funcionalidad celular (Ensayos a medida; Apoptosis/Necrosis, Estrés oxidativo, Inflamación, Daño en el DNA, calcio intracelular, etc.)
- Genotoxicidad:
 - Test de Ames (OECD 471)
 - Mutagenicidad en células de mamífero (OECD 476)
 - Test de micronúcleos (OECD 487)
 - Ensayos Comet (Basado en OECD 489)

▶ Regulación génica y proteica

- Toxicogenómica
- Toxicoproteómica

▶ Análisis de la piel

- Corrosión dérmica (OECD 435)
- Irritación dérmica (OECD 439)
- Fototoxicidad (OECD 432)
- Irritación oral y gingival
- Irritación vaginal
- Irritación nasal

▶ Análisis Ocular

- Irritación y daño Ocular (OECD 460, OECD 491, OECD 492)

▶ Nanomedicina & Nanoseguridad

▶ Estudio toxicológico de productos inhalados

- Estudios *in vitro* a medida crónicos y multidosis

Sistemas Experimentales

- Fracciones subcelulares: microsomas, vesículas, etc.
- Cultivos primarios
- Líneas celulares establecidas
- Modelos 3D:
 - Epitelio humano reconstituido: dérmico, oral, gingival, vaginal y ocular.
 - Epitelio pulmonar y nasal humano.
 - Barrera hematoencefálica.
- Explantes de piel humana, procedente de voluntarios.

En GAIKER somos expertos en el testado de principios activos y productos dermo-cosméticos. Donde llevamos a cabo estudios a medida, tanto de eficacia como de seguridad, según interés del cliente.



En GAIKER llevamos a cabo numerosos ensayos, tanto para ingredientes como para productos acabados:

- ▶ Testado de eficacia e identificación de nuevas funcionalidades, claims, etc.
- ▶ Evaluación de seguridad de acuerdo con los requerimientos regulatorios.

Llevamos a cabo estudios *in vitro* (líneas celulares epidérmicas, cultivos primarios y epitelio reconstituido), estudios *ex vivo* en explantes de piel humana y estudios clínicos en voluntarios.

100% orientados a nuestros clientes. Nos adaptamos a sus necesidades con estudios a medida y les asesoramos sobre los estudios más adecuados para su producto.



PRODUCTOS DERMO-COSMÉTICOS E HIGIENE PERSONAL Y SERVICIOS

Evaluación de seguridad (De acuerdo a SCSS)

- ▶ Screening de viabilidad
- ▶ Toxicidad tóxica:
 - Corrosión dérmica (OECD 431, OECD 435)
 - Irritación dérmica (OECD 439)
 - Irritación ocular (OECD 460, OECD491, OECD492)
 - Fototoxicidad (OECD 432, ICH S10)
- ▶ Irritación oral y gingival
- ▶ Irritación vaginal
- ▶ Sensibilización dérmica *in vitro*
- ▶ Genotoxicidad
 - Test de Ames (OECD 471)
 - Mutagenicidad en células de mamífero (OECD 476)
 - Test de micronúcleos (OECD 487)
 - Ensayo Comet (Basado en OECD 489)
- ▶ Absorción dérmica (OECD 428)

Estudios de eficacia

Llevamos a cabo estudios de eficacia tanto de principios activos como de productos acabados en diferentes sistemas experimentales (ensayos enzimáticos, cultivos celulares y piel humana). Estos estudios se basan en la búsqueda de propiedades específicas de utilidad para la piel:

- ▶ Screening enzimático mediante técnicas de High-throughput
- ▶ Actividad metabólica y salud tisular
- ▶ Proliferación
- ▶ Actividad Anti-inflamatoria
- ▶ Actividad y expresión de proteínas
- ▶ Actividad antioxidante
- ▶ Actividad tonificante
- ▶ Actividad cicatrizante; Regeneración tisular
- ▶ Actividad anti-edad
- ▶ Actividad anti-arrugas
- ▶ Efecto lipolítico; actividad anti-celulítica
- ▶ Protección UV-A, UV-B e IR-A
- ▶ Actividad despigmentante
- ▶ Protección ADN

La 7ª enmienda de la Directiva Cosmética (76/768/ECC) prohíbe desde marzo de 2013 la comercialización de productos dermo-cosméticos y sus ingredientes. GAIKER ofrece tecnologías alternativas para el desarrollo de nuevos productos dermo-cosméticos, alineadas con las tendencias europeas de apoyo a las 3 Rs. Realizamos estudios de eficacia y seguridad en modelos celulares (líneas celulares, cultivos primarios, epitelio reconstituido) que permiten confirmar la seguridad de un producto y sustentar claims específicos, ya que proporcionan información objetiva sobre el mecanismo de acción de un principio activo/producto.

Trabajamos con piel humana, tanto sana como con diferentes patologías, realizando estudios de irritación, quemaduras, foto-envejecimiento, sensibilización dérmica, dermatitis atópica, etc.

Para garantizar una elevada calidad y reproducibilidad de nuestros ensayos trabajamos exclusivamente con proveedores de epitelios validados internacionalmente.

Predice Seguridad de productos en la nanoescala para los ámbitos farmacéutico, cosmético y químico



► **Objetivo**

Evaluación de la seguridad de un producto farmacéutico, cosmético o químico con algún componente en la nanoescala según normativa vigente.

► **Descripción**

Actualmente existe un gran número de productos en el mercado con componente nano. La legislación vigente para la evaluación de la seguridad de estos productos depende del mercado en el que se engloben. Así, por ejemplo, los nanomateriales per se se rigen según normativa REACH, pero también aplicaría la legislación de biocidas, cosméticos... En general, no se espera que los productos con componente nano tengan un comportamiento toxicológico no descrito previamente, si bien, debido a las propiedades que les confiere la nanoescala, no es extrapolable en muchos casos el comportamiento toxicológico de productos convencionales.



Desde GAIKER tenemos experiencia tanto en el diseño de productos seguros desde el concepto, como en su evaluación toxicológica, adaptando el diseño experimental a las particularidades del producto y a su posible aplicación final. Nuestra estrategia toxicológica para nanopartículas tiene en cuenta:

- 1) Aplicación final
- 2) Ruta de entrada al cuerpo (inhalación, intravenosa, oral, dermatológica)
- 3) Tipo de exposición (aguda o crónica).

Estos datos nos permiten desarrollar estrategias de testado inteligentes adecuadas a las necesidades de nuestros clientes. Nuestros ensayos se apoyan tanto en metodologías clásicas de toxicología in vitro como en modelos celulares complejos (piel, tracto intestinal, epitelio pulmonar) capaces de simular escenarios de exposición reales (eg. Exposición en aerosol). La definición de ensayos, además, tiene en cuenta recomendaciones actuales de la OECD y nuestra experiencia en grupos de trabajo del NanoSafety Cluster.

► **Valor del Servicio para el Cliente**

Nuestros screening toxicológicos en fases tempranas de desarrollo apuestan por productos finales seguros. Nuestra experiencia de diseño seguro desde el concepto apuesta por una reducción de ensayos de laboratorio.

▸ **Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER**

Desde 1998 GAIKER cuenta con el CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO (BPL) otorgado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, lo que permite realizar estos estudios cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio. GAIKER además, participa activamente en la implementación de una nueva normativa europea con especial consideración para productos en la nanoescala y que a futuro se implementará en marcos como el REACH. Nuestro trabajo en este ámbito está avalado por nuestra participación activa en proyectos bandera como el NANoREG, NanoReg2 y Calibrate.

Parque Tecnológico Ed. 202, Zamudio (Bizkaia) | T.: 94 6002323 | miguel@gaiker.es | www.gaiker.es

Permiten conocer la **seguridad** y la **eficacia** de un producto.
Posibilidad de **valorizar un producto** mediante *claims* específicos.
Evitan el uso de animales en experimentación.

Acreditados
con certificado
BPLs desde
1998

► **Objetivo**

Determinar la capacidad irritante o corrosiva de un producto utilizando modelos de epitelios reconstituidos.

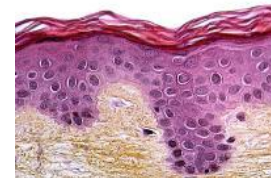
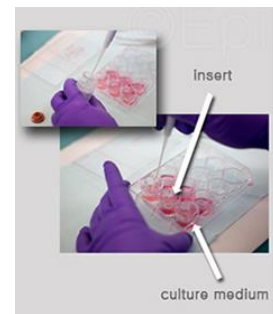
► **Descripción**

Los ensayos *in vitro* son una interesante alternativa a los métodos clásicos *in vivo* para la evaluación de las características biológicas, tanto de ingredientes como de productos acabados. Desde principios de 2013 cualquier producto cosmético a la venta no debe haber sido probado en animales en ninguna parte del mundo. Para otro tipo de productos (medicamentos, productos sanitarios o sustancias químicas) la utilización de ensayos *in vitro* permite limitar el uso de animales y son muy útiles en fases de screening.

IRRITACIÓN/CORROSIÓN DÉRMICA

Se utiliza un modelo de epidermis humana reconstituida (RhE). Se lleva a cabo de acuerdo a las siguientes guías:

- OECD Guideline No. 439. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. *In Vitro* Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method.
- OECD Guideline No. 431. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. *In Vitro* Skin Corrosion: Reconstructed human epidermis (RHE) test method.
- SKINETHIC SKIN IRRITATION TEST 42bis Standard Operating Procedure (SOP).



IRRITACIÓN OCULAR

Se utiliza un modelo de epitelio corneal humano reconstituido (RhCE). Se lleva a cabo de acuerdo a las siguientes guías:

- OECD Guideline No. 492. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage.

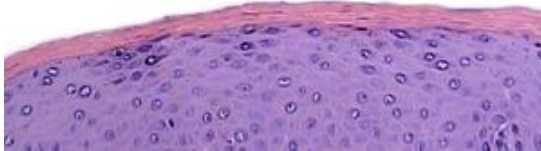


In vitro

- OECD Guideline No. 460. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. Fluorescent Leakage Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants.

IRRITACIÓN ORAL/GINGIVAL

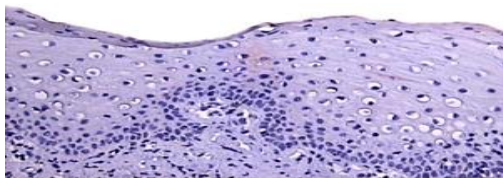
Se utiliza un modelo de epitelio oral o gingival humano reconstituido (HOE / HGE).



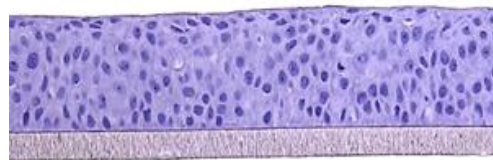
HEG *in vivo*



HGE *in vitro*



HOE *in vivo*



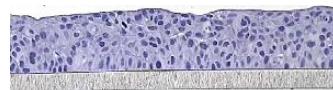
HOE *in vitro*

IRRITACIÓN VAGINAL

Se utiliza un modelo de epitelio vaginal humano reconstituido (HVE).



In vivo



In vitro

► Valor del Servicio para el Cliente

Los ensayos de eficacia *in vitro* en modelos celulares son muy útiles a la hora de sustentar claims específicos, ya que proporcionan una información objetiva sobre el mecanismo de acción.

A fin de garantizar una elevada calidad y reproducibilidad de los ensayos en nuestro laboratorio trabajamos exclusivamente con proveedores de epitelios validados internacionalmente (Episkin, MatTek Corporation).

► Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER

Desde 1998 GAIKER cuenta con el CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO (BPLs) otorgado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, lo que permite realizar estos estudios cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio.

La tecnología **FRANZ diffusion CELLS** permite la evaluación *in vitro* de la absorción a través de la piel de compuestos químicos, así como su tasa de liberación a partir de formulaciones semisólidas.

GAIKER realiza estos estudios **cumplimiento las normas de BPL**, para su presentación a diferentes autoridades regulatorias.

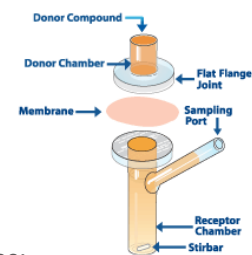
Según OECD y
FDA Guidelines
Bajo BPLs

Los estudios *in vitro* realizados con la tecnología FRANZ diffusion CELLS son:

- *In Vitro* Skin Absorption.
- *In Vitro* Release Test.

► ***In Vitro* Skin Absorption.** Se lleva a cabo de acuerdo a las siguientes guías:

- OECD Guideline No. 428, SCCP/0970/06: OECD Guideline For The Testing Of Chemicals. Skin Absorption: *in vitro* Method.
- OECD Guideline No. 28, unclassified ENV/JM/MONO(2004)2: Guidance Document For The Conduct Of Skin Absorption Studies.
- OECD Guidance Notes On Dermal Absorption (2010).
- Environmental Health Criteria 235. Dermal Absorption (WHO, 2006).



El **objetivo** de este estudio es determinar la absorción de una sustancia a través de la piel mediante una metodología *in vitro*.

Descripción: En GAIKER se realizan los estudios de Absorción Dérmica utilizando explantes de piel humana extraídos con dermatomo. La determinación analítica de los productos de ensayo se lleva a cabo mediante UPLC/MS/MS o DAD.

Valor del Servicio para el Cliente: Los estudios de Absorción Dérmica *in vitro* son esenciales en el desarrollo y registro de fármacos dermatológicos. Estos estudios permiten evaluar en humanos, utilizando piel humana *ex vivo*, el comportamiento y eficacia de las diferentes formulaciones, proporcionando datos que dan una buena predicción de la biodisponibilidad y bioequivalencia *in vivo*. Constituyen una alternativa económica y eficaz, teniendo en cuenta además la dificultad para evaluar *in vivo* la bioequivalencia de los productos dermatológicos de uso tópico. Son así una herramienta muy valiosa en el desarrollo de fármacos genéricos dermatológicos:

- Permiten justificar diferencias en formulación entre el genérico y el nuevo fármaco en desarrollo.
- Permiten también justificar cambios, entre el genérico y el nuevo fármaco en desarrollo, en calidad permitida, como la viscosidad, pero que pueden afectar a la absorción y penetración del principio activo.
- Los estudios de absorción dérmica *in vitro* son habitualmente requeridos por

las autoridades regulatorias como datos suplementarios del estudio de bioequivalencia para la aprobación de genéricos dermatológicos.

- Para algunas autoridades regulatorias (Brasil, la EMA, Sudáfrica y FDA) los estudios de absorción dérmica *in vitro* son suficientes en determinados casos para la aprobación de genéricos dermatológicos.
 - Facilitan una estrategia racional en el proceso de selección de candidatos.
- Estudio *in vitro* de absorción dérmica en piel humana de un producto de ensayo en una formulación. Se lleva a cabo siguiendo la norma: "OECD Guideline No. 428, SCCP/0970/06: OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS. Skin Absorption: in vitro Method", y cumpliendo con todos los requerimientos de BPLs.

► **In Vitro Release Test.** Se realiza de acuerdo a la siguiente guía:

- FDA guidance for industry (May 1997), (SUPAC-SS Nonsterile Semisolid Dosage Forms).

El **objetivo** de este estudio es caracterizar la liberación de un principio activo a partir de un producto semisólido.

Descripción: En GAIKER se realizan los estudios de Liberación *in vitro* utilizando diferentes membranas sintéticas: acetato de celulosa, polisulfona, etc... La determinación analítica de los productos de ensayo se lleva a cabo mediante UPLC/MS/MS o DAD.

Valor del Servicio para el Cliente: Los estudios de Liberación *in vitro* han sido usados por la industria farmacéutica durante años en el desarrollo de productos de uso tópico, principalmente en el proceso de control de calidad, ya que permiten caracterizar el comportamiento de una formulación tópica en cuanto a la liberación del principio activo a partir de la misma. Pero, además, estos estudios sirven como herramienta para justificar ante las autoridades regulatorias, total o parcialmente, algunos cambios que se producen tras la aprobación de productos tópicos semisólidos (tal y como recoge la guía "FDA guidance for industry (May 1997), SUPAC-SS Nonsterile Semisolid Dosage Forms". Dichos cambios post-aprobación incluyen:

- Cambios en componentes o composición.
 - Cambios en el proceso de fabricación.
 - Cambios en equipamiento del proceso de fabricación.
 - Cambios de escalado.
 - Cambios de lugar en el proceso de fabricación, envasado.
- Estudio *in vitro* de liberación de un producto de ensayo a partir de formulaciones semisólidas. Se lleva a cabo siguiendo la normativa FDA (SUPAC-SS Nonsterile Semisolid Dosage Forms) y cumpliendo con todos los requerimientos de BPLs.

► **Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER:** GAIKER cuenta desde 1998 con el CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE BPL otorgado por La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, lo que permite realizar los estudios de Absorción Dérmica cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio.

Predice con alta fiabilidad posibles efectos fototóxicos de un producto

Acreditados
con certificado
BPLs desde
1998

► **Objetivo**

Determinar el potencial fototóxico de un producto mediante el ensayo *in vitro* 3T3 NRU con el objetivo de conocer si puede entrañar peligros o no en caso de exposición a las radiaciones UV y de luz visible.

► **Descripción**

La fototoxicidad es una reacción tóxica que se produce tras la exposición de la piel a determinadas sustancias químicas y su posterior exposición a la luz, o por irradiación de la piel tras la administración sistémica de una sustancia química.

FOTOTOXICIDAD *IN VITRO* 3T3 NRU

El ensayo de fototoxicidad *in vitro* 3T3 NRU ha sido elaborado y validado con el fin de establecer un método *in vitro* válido para sustituir a los diversos ensayos *in vivo* empleados. Se lleva a cabo de acuerdo a la siguiente guía:

- OECD Guideline No. 432. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. *In Vitro* 3T3 NRU phototoxicity test.

► **Valor del Servicio para el Cliente**

Los resultados del ensayo de fototoxicidad *in vitro* 3T3 NRU se han comparado con los efectos de fototoxicidad/fotoirritación aguda *in vivo*, poniendo de manifiesto que el ensayo proporciona una excelente predictividad de dichos efectos.

► **Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER**

Desde 1998 GAIKER cuenta con el CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO (BPL) otorgado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, lo que permite realizar estos estudios cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio.

Evaluación de la seguridad de múltiples productos (productos químicos, cosméticos, nanomateriales) en base al daño generado sobre el genoma celular.



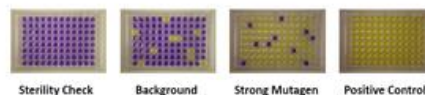
► **Objetivo**

El objetivo es la determinación del daño generado sobre el DNA de un principio activo, compuesto químico o nanopartícula mediante técnicas *in vitro*. Estas técnicas se basan en la capacidad de revertir mutaciones, generar micronúcleos y/o fragmentar el DNA.

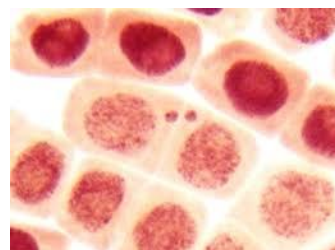
► **Descripción**

Según la recomendación de la Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment Chapter R.7a: Endpoint specific guidance y dentro del apartado dedicado a genotoxicidad, se recomienda la realización de los siguientes estudios de forma secuencial y que son los que se realizan en GAIKER:

- **Test de mutación en bacterias o test de Ames (OECD TG 471):** En este ensayo se utilizan diversas cepas de *Salmonella typhimurium* que contienen una mutación. Con esta mutación, las bacterias son incapaces de crecer en un medio de cultivo determinado. Al tratarlas con un producto genotóxico, esta mutación puede revertir y facilitar su crecimiento en ese medio de cultivo. El número de colonias formadas es indicativo de la potencia genotóxica del agente en estudio.



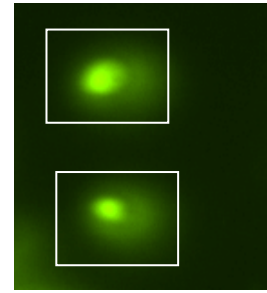
- **Ensayo de Micronúcleos (OECD TG 487):** En este ensayo se utilizan células de mamíferos. Cuando el DNA se fragmenta o los cromosomas no se separan correctamente durante la mitosis, pueden aparecer núcleos más pequeños que el núcleo original denominados micronúcleos. El tratamiento de las células con un agente genotóxico puede facilitar el aumento del número de estos micronúcleos. Este aumento es un parámetro indicativo de daño celular genotóxico.



- **Ensayo de mutación génica en células de mamífero (OECD TG 476):** Este ensayo es similar al test de Ames descrito anteriormente, pero se lleva a cabo utilizando células de mamífero que poseen una mutación en el gen *hprt* o *xprt* en lugar de bacterias. Si el agente en estudio es genotóxico, esta mutación puede revertirse permitiendo a las células crecer en un medio concreto.

Otros ensayos de genotoxicidad realizados en GAIKER.

Es muy común el uso del **Comet assay** que recibe su nombre de la forma que adquieren las células de mamífero al microscopio de fluorescencia al ser tratadas con un agente genotóxico. Este agente genotóxico fragmenta el DNA de las células. Posteriormente, estas se inmovilizan sobre una matriz de agarosa y se someten a un campo eléctrico. Los fragmentos de DNA más pequeños migran más y los más grande menos partiendo del núcleo de la células lo que le da un aspecto de “cometa”. La longitud de la “cola” del cometa sirve para cuantificar el potencial genotóxico del agente en estudio.



► Valor del servicio para el cliente

Este tipo de estudios se llevan a cabo principalmente con el fin de determinar la seguridad de un principio activo, producto químico o nanomaterial que posteriormente puede ser llevado a registro para el uso o consumo humano. Suelen realizarse bajo el estándar de “Buenas Prácticas de Laboratorio” (BPLs/GLPs). También son de utilidad para determinar las medidas de protección necesaria para trabajadores que manipulan esos productos.

► Ventajas de contratar el servicio con GAIKER

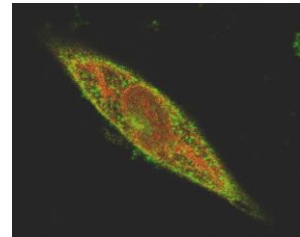
GAIKER posee certificado BPLs lo que los resultados de estos ensayos puedan ser llevados a registro en las agencias regulatorias (EMA y FDA). Además, podemos realizar todo el paquete de ensayos (exceptuando los ensayos *in vivo*) y ser muy competitivos en precios y plazos de entrega.

Técnicas de microscopía de fluorescencia avanzadas para el estudio de eficacia de fármacos, cosméticos y nanomateriales.

Imágenes de
alta resolución

► **Objetivo**

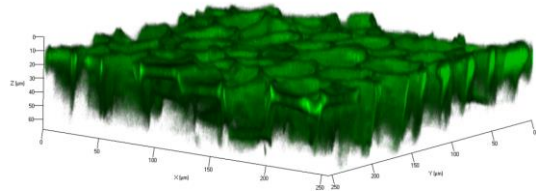
El objetivo es la obtención de imágenes fluorescentes de alta resolución que permitan obtener información sobre los mecanismos de acción o de absorción de principios activos, formulaciones cosméticas o nanofármacos.



► **Descripción**

Esta técnica permite la obtención de imágenes de fluorescencia tanto de células como tejidos y de principios activos o nanofármacos si éstos están marcados fluorescentemente. Dentro de los diferentes estudios que pueden realizarse están los siguientes:

• **CLSM o microscopía de laser confocal de barrido:** esta variante permite obtener imágenes de cortes longitudinales de piel o explantes a diferentes planos focales que posteriormente pueden ser rotados y superpuestos, generando así una imagen 2D (o 3D) de lo equivalente a un corte transversal de las capas de la piel, desde el estrato corneo, la epidermis y la región inicial de la dermis). De esta manera pueden observarse procesos como la penetración de principios activos y el efecto de estos sobre las células o regiones de la piel y la composición de la flora dérmica. Dependiendo del objetivo utilizado, se pueden llegar a observar espesores desde 10-15 μm con alta resolución hasta 60-70 μm con una resolución más baja.



• **Time lapse o secuencia temporal:** Con esta técnica se pueden obtener imágenes secuenciales del efecto de un principio activo sobre las células con el paso del tiempo. Si el principio activo o nanofármaco es fluorescente puede también observarse el mecanismo de entrada en la célula y en que orgánulos se aloja, incluso como es excretado. Esto permite incluso la elaboración de archivos de video.

• **Estudios de co-localización:** Con este tipo de análisis pueden aportarse datos numéricos relativos e imágenes sobre la distribución espacial de compuestos fluorescentes en el entorno de la célula o distribución espacial del efecto sobre las células o en un área de tejido.

► **Valor del servicio para el cliente**

Este tipo de estudios que generan imágenes permiten extraer datos con un alto valor comercial para las empresas ya que, aunque los datos cuantificables que pueden aportar son relativos, la visualización del efecto generado dota de un valor que no puede ser igualado por los datos numéricos, sobre todo cuando el cliente final no posee un perfil técnico. También es posible obtener algunos datos numéricos relacionados con la geometría de la muestra, etc. El uso de microscopía como técnica analítica permite obtener una idea directa de lo que ocurre en los tejidos o células en contraposición de las medidas bioquímicas indirectas que normalmente requieren de una interpretación de los resultados mucho más compleja y de personal más específico. Los estudios de CLSM para la industria cosmética tienen cada vez más relevancia así como el estudio de los mecanismos de acción de fármacos y nanofármacos para las agencias reguladoras (EMA y FDA).

► **Ventajas de contratar el servicio con GAIKER**

Poseemos un equipamiento de última generación para llevar a cabo estos estudios y tenemos la experiencia de trabajar con explantes de piel y otros tejidos e incluso con nanoformulaciones fluorescentes. Otra de las grandes ventajas es que son estudios bastante rápidos y que evitan el uso de otro equipamiento mucho más complejo y tedioso (micrótomo para la generación de los cortes transversales, por ejemplo).

Es un hecho reconocido que las bacterias que crecen y forman biopelículas son mucho más resistentes a la desinfección que las que están en suspensión en la fase acuosa. Por tanto, que un agente bactericida sea eficaz en solución acuosa no garantiza que pueda actuar de igual manera sobre la matriz de las biopelículas bacterianas.

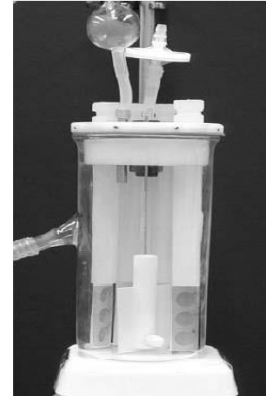
► **Objetivo**

Evaluar la actividad antibiofilm de principios activos, formulaciones y/o producto final.

► **Descripción**

Determinar la efectividad bactericida y fungicida frente a diversos microorganismos mediante:

- Generación de biofilms característicos de diferentes hábitats (medioambiental, clínico, alimentación, materiales) en sistema CDC en flujo continuo sobre diferentes superficies abióticas (vidrio borosilicato, acero inoxidable ...) según ASTM E2196-07.
- Evaluación de las propiedades antibiofilm según ASTM E2871-13, y caracterización del crecimiento y viabilidad de biofilms sobre diferentes superficies mediante marcaje y visualización en CLSM.

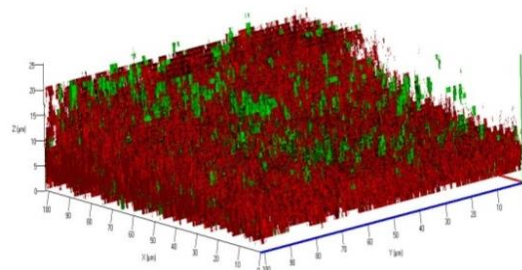
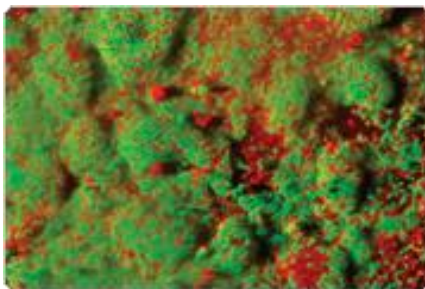


► **Valor del servicio para el cliente**

Reivindicación de producto mediante claim/slogan “eficacia frente a biofilm generado por las bacterias / hongos ...”. Diferenciación y posicionamiento en mercado.

► **Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER**

Personal altamente cualificado, equipamiento e instalaciones que permiten llevar a cabo ensayos de evaluación antibiofilm con amplio abanico de microorganismos.



VERDE(LIVE) membrana bacteriana intacta

ROJO (DEAD) bacteria con membrana dañada

La incorporación de la tecnología antimicrobiana en el desarrollo de pinturas, recubrimientos, cerámicas y materiales plásticos se emplea cada vez más para evitar el crecimiento de las bacterias y hongos causantes de manchas, olores y deterioro de las superficies en sectores tan diversos como el transporte, automoción, envase y embalaje, construcción etc. En este sentido es fundamental la evaluación de nuevos agentes antimicrobianos que puedan ser aplicados en diversas áreas de desarrollo de materiales y de recubrimientos.



► **Objetivo**

Evaluar la efectividad bactericida y fungicida de principios activos, formulaciones y/o producto final mediante métodos cualitativos y/o cuantitativos.

► **Descripción**

Determinar la capacidad antimicrobiana del aditivo/principio activo individualmente o integrado en una formulación (pinturas, barnices, recubrimientos...) o un material (plástico, textil, mortero...) mediante diversas metodologías y normas frente a microorganismos de interés.

BACTERIAS:

Pseudomonas aeruginosa
Escherichia coli
Staphylococcus aureus
Vibrio parahaemolyticus
Salmonella spp
Listeria monocytogenes
Legionella pneumophila

HONGOS (mohos y levaduras):

Candida albicans
Sacharomyces cerevisiae
Aspergillus brasiliensis
Aspergillus niger
Aspergillus versicolor
Penicillium chrysogenum
Cladosporium cladosporioides
Alternaria alternata

- JIS Z 2801 Antimicrobial products-Test for antimicrobial activity and efficacy” utilizando como referente el Japanese Industrial Standard
- ASTM 2149-01 Standard Test method for determining the Antimicrobial Activity of Immobilized Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact conditions
- UNE-EN ISO 846:1997 Evaluación de la acción de microorganismos en Plásticos
- ISO 22196:2011 Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces of products (including intermediate products)
- ISO 16869 Plastics-Assessment of the effectiveness of fungistatic compounds in plastics formulations
- AATCC Antibacterial activity assessment of textile materials: parallel streak method
- Standard Zone of Inhibition Test (Kirby Bauer Qualitative Test for growth Inhibition)
- Determinación de la eficacia de los conservantes de la película de un recubrimiento frente a los hongos. UNE-EN 15457:2014, Pinturas y barnices

► **Valor del servicio para el cliente**

Reivindicación de producto mediante claim / slogan “eficacia antimicrobiana probada frente a las bacterias / hongos ...”. Diferenciación y posicionamiento en mercado.

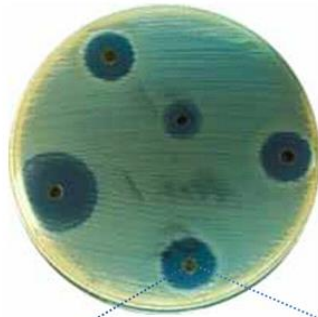
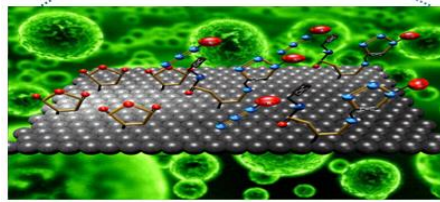


Imagen. Ensayo de eficacia antimicrobiana mediante halo de inhibición (método cualitativo Kirby Bauer)



► **Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER**

Personal altamente cualificado, equipamiento e instalaciones que permiten llevar a cabo ensayos de evaluación antimicrobiana con amplio abanico de microorganismos y muy diversas metodologías.

Ensayos para el desarrollo, validación y benchmarking de detergentes, productos de limpieza de uso general y productos desinfectantes empleados en industria alimentaria, en el hogar o en colectividades. Permiten evaluar la capacidad antimicrobiana para desarrollar productos más competitivos e innovadores.



► **Objetivo**

Evaluar la efectividad bactericida y fungicida de principios activos, formulaciones y/o producto final mediante métodos cualitativos y/o cuantitativos.

► **Descripción**

Determinar la efectividad bactericida y fungicida mediante diversas metodologías y normas frente a microorganismos de interés.

BACTERIAS:

Pseudomonas aeruginosa
Escherichia coli
Staphylococcus aureus
Salmonella spp
Listeria monocytogenes

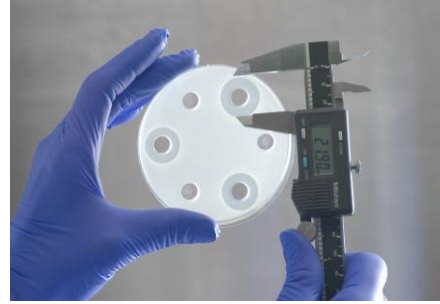
HONGOS (mohos y levaduras):

Candida albicans
Sacharomyces cerevisiae
Aspergillus brasiliensis
Aspergillus niger
Penicillium chysogenum

- UNE-EN-1276:2010 Actividad bactericida de los antisépticos y desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad
- UNE-EN-1650:2008 Actividad fungicida de los antisépticos y desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad
- UNE-EN 13697:2002 Ensayo cuantitativo de superficie no porosa para la evaluación de la actividad bactericida y/o fungicida de los desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad. Método de ensayo sin acción mecánica
- Standard Zone of Inhibition Test (Kirby Bauer Qualitative Test for growth Inhibition)
- UNE-EN-1040:2006 Actividad bactericida básica
- UNE-EN-1275:2007 Actividad fungicida básica

▶ **Valor del servicio para el cliente**

Reivindicación de producto mediante claim / slogan “eficacia antimicrobiana probada frente a las bacterias / hongos ...”. Diferenciación y posicionamiento en mercado.



▶ **Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER**

Personal altamente cualificado, equipamiento e instalaciones que permiten llevar a cabo ensayos de evaluación antimicrobiana con amplio abanico de microorganismos y muy diversas metodologías.

La Directiva Europea de Cosméticos (76/768/ECC) requiere que los nuevos productos dermo-cosméticos lanzados al mercado sean previamente evaluados.

Los estudios Challenge Test garantizan la seguridad microbiológica de los mismos, ya que permiten detectar si se produce el desarrollo de determinados microorganismos patógenos o alterantes.



► **Objetivo**

Conocer la estabilidad microbiológica de una formulación cosmética y/o la eficacia de un nuevo conservante inhibidor del desarrollo de los microorganismos.

► **Descripción**

El estudio consiste en introducir diversos microorganismos patógenos en la formulación del dermo-cosmético. El conjunto de microorganismos están relacionados con contaminaciones que pueden darse durante el procesado y almacenamiento de los productos, así como en la manipulación por parte de los consumidores. Se monitoriza la estabilidad microbiológica y se evalúa así la capacidad del producto para inactivar el desarrollo y crecimiento de los microorganismos.



Además de la norma UNE 11930:2012, se consideran las normas UNE-EN ISO 21149:2010 y UNE-EN ISO 16212:2011.

► **Valor del Servicio para el Cliente**

Confirmar la estabilidad microbiológica del producto y con ello la calidad del mismo. Además incluye las principales etapas de la cadena de valor (producción, almacenamiento y manipulación). Permite identificar, antes de lanzar al mercado, las formulaciones que menos favorecen el desarrollo y crecimiento de los microorganismos a lo largo de toda su vida útil.

► **Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER**

Conocimientos y experiencia personal, disponibilidad equipamiento e instalaciones necesarias.

AUTENTICACIÓN DE ESPECIES ANIMALES POR TÉCNICAS MOLECULARES (PCR-RFLP Y PCR A TIEMPO REAL)

La importancia del control de alimentos, en cuanto a la identificación de sus componentes para evitar fraudes, ha crecido tanto en interés en las organizaciones estatales como en las empresas y en las industrias.

La globalización y los tratados de libre comercio han propiciado un mayor intercambio y acceso de los alimentos a nivel mundial; junto con ello los problemas asociados a los fraudes tales como la adulteración, sustitución, la intencionalidad, y falsificación se han incrementado. Es por todo ello, que en la actualidad, las técnicas genéticas constituyen una de las alternativas más específicas para llevar a cabo la diferenciación de especies animales.



► Objetivo

- Detección de especies cárnicas y pesqueras.
- Verificación del correcto etiquetado.
- Evitar fraudes y alergias alimentarias.

► Descripción

- Autenticación de especies de origen animal mediante herramientas moleculares rápidas, sensibles y altamente específicas.
- Control de contaminaciones

Autenticación de ESPECIES de PESCADO

PCR a tiempo real especie-específico :
-BACALAO: Bacalao de Noruega (*Gadus morhua*)
Bacalao del Pacífico (*G. macrocephalus*)

PCR-RFLP :
-TÚNIDOS: Bonito del Norte (*Thunus alalunga*)
Atún claro (*Thunnus albacares*)
Patudo (*Thunnus obesus*)
Cimarrón (*Thunnus thynnus*)
Listado (*Katsuwomis pelamis*)

-ANCHOAS: Anchoa del Cantabrico (*E. enchrasicholus*)
Anchoa china (*Engraulis japonicus*)
Ancho Argentina (*Engraulis anchoita*)

Autenticación de ESPECIES CÁRNICAS

PCR a tiempo real especie-específico :
-PORCINO (*Sus scrofa*)
-VACUNO (*Bos taurus*)
-EQUINO : caballo (*Equus caballus*)
-OVINO (*Ovis aries*)
-CAPRINO (*Capra hircus*)
-AVICOLA : pollo (*Gallus gallus*)
pavo (*Meleagris gallopavo*)

► Valor del Servicio para el Cliente

Disponer de sistemas de detección avanzados altamente específicos, que les permitan detectar de forma temprana posibles errores, y/o contaminaciones y/o fraudes. Capacidad de respuesta rápida, específica y sensible.

► Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER

Conocimientos y experiencia personal, disponibilidad equipamiento e instalaciones necesarias.

Identificación de **secuencias genéticas** específicas mediante herramientas de biología molecular (PCR a tiempo real y HRM), aplicadas a:

1. Seguridad alimentaria
2. Salud humana y animal
3. Control y/o monitorización de la bioseguridad ambiental.



► **Objetivo**

Ensayos de PCR a tiempo real para la detección temprana de microorganismos y/o la identificación específica de biomarcadores.

► **Descripción**

Detección específica del genoma de microorganismos de interés e identificación de marcadores genéticos para:

- Garantizar la seguridad alimentaria, identificación temprana:
 - *Salmonella* spp
 - *Listeria* spp
 - *Listeria monocytogenes*
 - *Campylobacter jejuni*
 - *Campylobacter* spp
 - *Escherichia coli* 0157:H7
 - *Cronobacter sakazakii*
 - *Staphylococcus aureus*
- Diferenciar cepas microbianas mediante análisis de curvas de fusión de alta resolución (HRM, del inglés High Resolution Melting)
- Detectar marcadores genéticos asociados a patologías e infecciones
- Controlar y monitorizar la seguridad medioambiental: Calidad del agua y aire en instalaciones diversas:
 - Hongos
 - *Legionella* spp.

► **Valor del Servicio para el Cliente**

Disponer de sistemas de detección avanzados. Capacidad de respuesta rápida, específica y sensible.

► **Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER**

Conocimientos y experiencia personal, disponibilidad equipamiento e instalaciones necesarias.

Optimización, desarrollo y/o validación de métodos analíticos de cromatografía líquida, para los sectores de formulación y de productos farmacéuticos y químicos.

Tecnología de
vanguardia

► **Objetivo**

Desarrollo de métodos analíticos de cromatografía líquida UPLC-MS/MS o UPLC-DAD a medida de las necesidades del cliente.

► **Descripción**

Se desarrollan métodos analíticos mediante los siguientes apartados, que pueden ser desarrollados de forma individual o conjunta:

- ✓ *Optimización en el detector MS/MS.* El compuesto debe de ser optimizado inicialmente en el espectrómetro de masas, para caracterizar los parámetros de las transiciones requeridas para su detección.
- ✓ *Condiciones cromatográficas.* Usando cromatografía de fase reversa y gradientes se desarrolla la puesta a punto con patrones de calibración del compuesto en estudio. Este desarrollo puede ir unido a una detección por Ultravioleta-visible.



- ✓ *Desarrollo del método analítico.* Evaluación del método desarrollado en base a la Guía FDA. Se evaluarán los parámetros de: linealidad y sensibilidad, precisión y exactitud utilizando patrones de calibración del compuesto en estudio.

- ✓ *Validación.* El método es validado de acuerdo la Guía de la FDA "Bioanalytical Method Validation" CDER September 2013.

► **Valor del servicio para el cliente**

Externalización de la puesta a punto de los métodos cromatográficos.
Reducción de costes internos.

► **Ventajas de Contratar el Servicio con GAIKER**

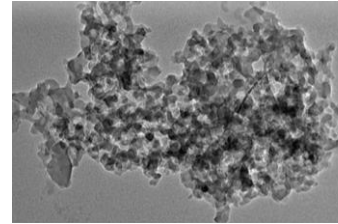
Desde 1998 GAIKER cuenta con el CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO (BPLs) otorgado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, lo que permite que los servicios realizados por GAIKER cuenten con este reconocido aval. En el proceso de desarrollo de los métodos el cliente cuenta con el asesoramiento experto de GAIKER.

► **Objetivo**

Evaluar la seguridad y análisis de riesgo de nanomateriales y sus procesos de producción o de los productos que los contengan. Análisis de ciclo de vida

► **Descripción**

Los **nanomateriales manufacturados (MNM)** presentan unas propiedades específicas que hacen que sean de gran interés para la industria. Sin embargo, aún no se conocen con certeza los efectos que pueden tener para la salud de los seres vivos.



GAIKER proporciona una valiosa ayuda a un desarrollo responsable de este tipo de productos a través de los siguientes servicios especializados:

- **Utilización de herramientas *control banding*** para determinar el riesgo y gestión de riesgos de nanomateriales manufacturados en ausencia de información:
 - Identificación de puntos de riesgo en el proceso
 - Identificación de lagunas de conocimiento
- **Identificación de necesidades regulatorias**
- **Evaluación de la seguridad:**
 - Análisis físico-químicos: TEM, SEM, DLS, Z-potential
 - Evaluación toxicológica para determinación de riesgos (*in vitro*):
 - *Mutagenicidad (OECD 487 y 476)*
 - *Irritación dérmica, corrosión (OECD 431, 435, 439)*
 - *ROS (por distintas vías de exposición)*
 - *Fototoxicidad (OECD 432)*
 - *Inflamación*
 - *Toxicidad inhalatoria in vitro (exposición en aerosol)*
- **Análisis de ciclo de vida.** Evaluación del perfil ambiental de los MNM. Identificación y análisis de impactos asociados al ciclo de vida de los MNM.

► **Valor del servicio para el cliente**

Determinar la seguridad de los nanomateriales en etapas tempranas de su desarrollo lo que permitirá desarrollar un diseño seguro de los mismos con ahorro de tiempo y dinero. Mejorar la seguridad para el trabajador. Preparación para regulatoria.

► **Ventajas de contratar el servicio con GAIKER**

GAIKER tiene una gran experiencia tanto en nanotoxicología como en análisis de riesgo y ciclo de vida adquirida a través de su participación en proyectos europeos específicos en esta temática

Gaiker

MEMBER OF
BASQUE RESEARCH
& TECHNOLOGY ALLIANCE

Centro Tecnológico GAIKER

Parque Tecnológico, Ed. 202. 48.170 Zamudio (Spain)

T.: +34 94 6002323 | mark@gaiker.es

www.gaiker.es