

NORMAS BASICAS PARA LA MANTENCION DE RATONES Y RATAS DE LABORATORIO

Dra. Claudia López Gómez (M.V.)

Estas normas tienen como finalidad estandarizar los criterios de alojamiento de ratones y ratas de laboratorio, empleados en investigación, docencia y controles de calidad de medicamentos y vacunas, con el fin de reducir la variabilidad experimental que provoca una mantención inadecuada. Asimismo, estos lineamientos permiten promover y resguardar el bienestar de los animales sometidos a experimentación, asegurando la calidad de la Investigación biomédica.

Las condiciones en que se mantienen los animales deben ser evaluadas por un médico veterinario quien realizará el chequeo de su salud y bienestar. Dependiendo de la finalidad del bioterio o unidad animal la supervisión veterinaria será total o parcial.

RATAS Y RATONES DE LABORATORIO

Los roedores han sido los animales más empleados en experimentación debido a su pequeño tamaño y alta prolificidad, que permiten obtener y mantener una importante cantidad de individuos en un menor espacio y en menor tiempo.

El ratón de laboratorio, *Mus musculus laboratorius*, y la rata, *Rattus norvegicus* encabezan el listado de las especies más empleadas en investigación, por lo que su fisiología es ampliamente conocida.

CONDICIONES DE MANTENCION

Las características del ambiente son esenciales para el bienestar animal pues permitirán a los roedores reproducirse y desarrollarse en un estado de salud óptimo.



CARACTERISTICAS DE LA INFRAESTRUCTURA

La construcción del bioterio o unidad de crianza o mantención debe estar diseñada para facilitar la limpieza y desinfección y debe permitir un flujo unidireccional desde las áreas limpias a las sucias.

Por seguridad, las puertas deben abrir hacia adentro, y en lo posible deben tener visores y ser construidas con materiales que resistan la corrosión. Para el caso de roedores, las ventanas son inapropiadas ya que dificultan el control de la climatización y el fotoperíodo (cantidad de horas luz/oscuridad).

El piso debe ser liso, no absorbente, resistente a la humedad, y a los impactos. Para bioterios de roedores pequeños, no se requiere de drenaje de los pisos, ya que pueden ser limpiados eficazmente con mopas.

Para evitar el riesgo de contaminación cruzada y facilitar los flujos de

circulación limpio-sucio, el área de lavado y limpieza deben encontrarse fuera de la sala de animales, al igual que bodegas y sectores administrativos.

BARRERAS SANITARIAS

Las barreras sanitarias tienen como objetivo evitar el ingreso de microorganismos patógenos hacia los animales, los cuales deterioran su calidad sanitaria. Es por ello que a mayor calidad microbiológica de los animales, la complejidad y rigurosidad de las barreras sanitarias es mayor. Para bioterios de animales "limpios", libres de gérmenes o axénicos, las barreras sanitarias son más estrictas que para un bioterio de roedores libres de patógenos específicos (specific pathogen free, SPF).

En la unidad de cría o mantención debe existir:

- Autoclave para la esterilización de viruta (cama) e implementos (botellas, bebederos, jaulas).

- Presión positiva en las salas de animales respecto de los pasillos.
- Filtros HEPA en el ingreso del aire, cortinas de aire para animales SPF y axénicos.
- Uso de ropa limpia o estéril exclusiva para el trabajo en salas (traje de cirugía, buzo, guantes, mascarillas, gorras, cubrecalzado).
- Lavado y desinfección de implementos (jaulas, botellas), con soluciones de hipoclorito de sodio o amonios cuaternarios.
- Lavado de manos antes y después del trabajo con animales, con jabón desinfectante. Otra alternativa es trabajar con guantes de látex estériles o pinzas quirúrgicas.
- Uso de alimento esterilizado. Sólo pueden autoclavarse raciones específicas para este fin (sólo hay importadas), las que poseen un mayor nivel de proteínas y vitaminas. De lo contrario, para marcas nacionales debe controlarse microbiológicamente cada partida de alimento.
- Agua potable filtrada o autoclavada.

MACROAMBIENTE

Se denomina macroambiente a las condiciones básicas que debe cumplir la sala de animales. Dentro de las cuales se encuentran los siguientes factores a controlar:

• TEMPERATURA.

La temperatura ideal debe ayudar a mantener la de termoneutralidad y no exponer a los animales a temperaturas extremas (menores de 5°C ni mayores de 29°C) que pueden producir efectos negativos en la salud. Para roedores se recomienda una temperatura de 20 a 26°C (bulbo seco) y una humedad relativa del 35 a 70%. La temperatura de cada sala deber ser registrada diariamente.

• FOTOPERIODO

El fotoperíodo debe ser constante para no afectar la fisiología reproductiva y la conducta normal, evitando



el stress. En general, la luz debe difundirse a través de la sala y proveer la suficiente luminosidad para el bienestar de los animales y el trabajo de los técnicos. Se recomienda tener una intensidad de 325 unidades lux a 1 metro de altura.

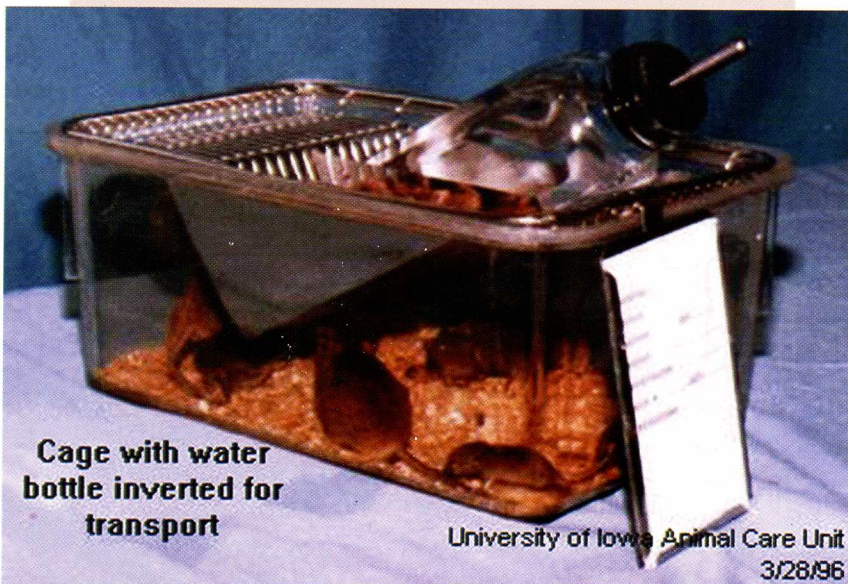
El fotoperíodo ideal para reproducción de ratas y ratones es de 12 a 14 hrs. de luz en 24 hrs, controlado con reguladores automáticos o manualmente.

• VENTILACION

Una ventilación adecuada previene

la acumulación de tóxicos respiratorios de origen animal (amonio principalmente), disminuye la carga de alérgenos ambientales y de microorganismos contaminantes, reduce la concentración de dióxido de carbono y mantiene la temperatura y la humedad relativa.

Para mantener una ventilación uniforme es preferible el uso de un equipo de climatización que incluya inyección y extracción de aire, manteniendo 10 a 15 recambios de aire fresco por hora. Es ideal el uso de presión positiva para las salas. Los



CARACTERÍSTICAS DE LOS MATERIALES PARA JAULAS

	Transparente	Autoclavable (121 °C)
Polipropileno	NO	SI
Policarbonato	SI	SI
Fibra de vidrio	NO	NO

RATONES - ÁREAS DE ALOJAMIENTO RECOMENDADAS POR ANIMAL (N.R.C., 2003):

	Area (cm ²)/animal	Altura (cm)
Ratón <10 gr	38	12,7
Ratón 10-15 gr	51	12,7
Ratón 15-25 gr	77	12,7
Ratón >25 gr	96	12,7

olores fuertes en las salas revelan una ventilación o manejo inadecuados.

En los bioterios de crianza no es necesario el uso de filtros HEPA a la salida de los extractores, pudiendo emplearse filtros de carbón activado para la retención de olores. En los bioterios donde se experimente con agentes biológicos o químicos peligrosos, los extractores deben tener filtros HEPA a la salida.

• RUIDO

El ruido excesivo puede provocar alteraciones fisiológicas graves en los roedores, como el cese de la reproducción y canibalismo. La exposición reiterada de los animales a ruidos mayores a 85 decibeles puede tener efectos no auditivos como eosinopenia y aumento del tamaño de las glándulas adrenales y canibalismo (signos de stress).

Se recomienda por ello, evitar el lavado y limpieza de cajas dentro de las salas, el uso de radios a volúmenes fuertes, gritos y silbidos dentro del bioterio.

MICROAMBIENTE (ALOJAMIENTO)

Es el ambiente dentro de la jaula. Para ratas y ratones, las jaulas deben permitir la satisfacción de las necesidades fisiológicas y conductuales.

Las jaulas más empleadas son las tipo "caja de zapato" elaboradas en policarbonato, polipropileno o fibra de vidrio, con tapas de rejilla metálica o de acero inoxidable.

Como material de "cama" se emplea usualmente una capa de viruta de maderas blancas¹ (álamo, pino, etc.) de al menos 3 cm. de alto. Esta debe ser siempre esterilizada previo al uso.

¹ El uso de maderas rojas, por su alto contenido de resinas, puede alterar la función hepática, lo que se refleja en un marcado aumento en la concentración de enzimas microsomaes hepáticas.

RATAS - ÁREAS DE ALOJAMIENTO RECOMENDADAS POR ANIMAL (N.R.C., 2003):

	Área (cm ²)/animal	Altura (cm)
Rata < 100 gr	109	17
Rata 101-200 gr	148	17
Rata 201-300 gr	187	17
Rata 301-400 gr	258	17
Rata 401- 500 gr	387	17
Rata > 500 gr	>452	17

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL ALIMENTO PARA RATAS Y RATONES

Análisis químico proximal (% sobre base húmeda)

	EXTRUIDO	PELLETIZADO
Proteína gr%	≥ 20	≥ 20
Humedad gr%	≤ 11	≤ 11
Lípidos (base seca) gr%	2,5 a 5	4 a 8
Fibra cruda no digestible gr%	≤ 8,5	≤ 8,5
Calcio gr%	≥ 1	≥ 1
Fósforo total gr%	≥ 0,7	≥ 0,7
Cenizas gr%	≤ 10	≤ 10

No se recomienda el uso de pisos de rejillas debido a que imposibilitan la conducta normal del roedor (anidar y esconderse), además de no poseer la propiedad de absorber líquidos.

En la práctica, una jaula para ratones de 19 x 30 cm, con un área de 570 cm² puede albergar 15 ratones de <10 gr, 11 animales de 10-15 gr y 8 ratones de 15-25 gr.

En la práctica una jaula para ratas de 22 x 45cm, con un área de 990 cm² puede recibir, 9 animales de <100 gr, 6 individuos de 101-200 gr, 4 individuos de 201-400 gr, 2 a 3 individuos de 401 a >500 gr.

ALIMENTACION

Los roedores poseen un alto metabolismo lo que se ve reflejado en las cantidades de alimento que consumen que pueden llegar al 15% del peso vivo al día.

El alimento para ratones y ratas consiste en pellets formulados comercialmente en base a los requerimientos nutricionales de estas especies y que facilitan el desgaste de su dentadura. Las raciones disponibles a nivel nacional se presentan como pellet y pellet extruido y no son autoclavables.

El alimento debe ser administrado a libre disposición salvo si los protocolos indican lo contrario.

Cada partida debiera ser controlada previo al uso, en términos de:

• ANALISIS QUIMICO PROXIMAL:

Donde debe cumplir con los requerimientos establecidos por el National Research Council (N.R.C).

• ANALISIS MICROBIOLOGICO:

Las raciones que no son autoclavables deben estar libres de bacterias patógenas y hongos.

Sólo deben aceptarse partidas de alimento que cumplan con los dos análisis. El alimento no debe permanecer almacenado en bodegas por más de 4 meses ya que se expone a deterioro microbiológico, nutricional y físico. No debe almacenarse expuesto a luz solar.

AGUA

El agua de bebida idealmente, debe ser esterilizada, lo mismo las botellas y bebederos. De no ser esto posible, deben desinfectarse los implementos antes de cada uso. Se recomienda cambiar el agua al menos dos veces por semana y emplear agua potable filtrada, para evitar la proliferación de microorganismos. El agua siempre debe ser administrada ad libitum.

BIBLIOGRAFIA

- N.R.C., 2003. Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratorio. 162p.
- N.R.C., 1996. Rodents: Laboratory animal Management. National Academic Press, Washington D.C., 166p.
- N.R.C., 1995. Nutrient requeriments of Laboratory animals. 4ª Ed. National Academic Press, Washington D.C. 175p.
- CCAC, 1984. Guide to the care and Use of experimental animal. Vol 1, CCAC, 120p.
- HARKNESS, J y WAGNER, J. 1983. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. Lea & Febiger, Philadelphia, 109 p.

Dra. Claudia López Gómez (M.V.)
Centro Productor de
Animales de Laboratorio
Departamento de Producción
Instituto de Salud Pública de Chile
clopez@ispch.cl
bioterios@ispch.cl