

III. EL AMBIENTE

Hay muchos factores físicos, químicos y biológicos que pueden tener influencia sobre los animales de experimentación y que modifican posteriormente los resultados de las investigaciones (Melby, 1983; Small, 1983). Los resultados experimentales logrados son, en principio, válidos para las condiciones en las cuales fueron obtenidos y útiles para la comparación, solamente están disponibles todas las informaciones pertinentes y relativas a las condiciones experimentales.

Entre los factores ambientales que deben registrarse para ser incluidos si fuera necesario en los informes científicos, se encuentran: la temperatura (°C y variaciones), la humedad relativa (% y variaciones), y si estos factores están o no controlados; los cambios de aire/hora, la proporción del aire fresco y del recirculado, y las concentraciones de partículas o de gas en el aire; la iluminación (natural y/o artificial, el fotoperiodo, y la intensidad); el tipo de agua, su calidad y su tratamiento previo; el tipo de cama, su calidad y su tratamiento previo; la densidad del alojamiento; el equipamiento de los locales del alojamiento; y las medidas físicas para proteger las condiciones microbiológicas. El estado microbiológico del animal debe ser mencionado [convencional, exento de organismos patógenos específicos (SPF, en inglés), o gnotobiótico con microorganismos específicos] (WCBCLA, 1985).

A. CONTROL DEL AMBIENTE

Las exigencias ambientales varían según la especie animal y el protocolo experimental. Los parámetros del ambiente están habitualmente evaluados al nivel del local del alojamiento. Sin embargo, el más importante es el micro ambiente de la jaula, porque las condiciones entre uno y el otro pueden variar considerablemente (Woods, 1980; Corning y Lipman, 1992). Un resumen de algunos parámetros ambientales para algunas especies individuales está dado en el Anexo I.

El diseño de la instalación para los animales debe permitir ajustar los mecanismos de control del ambiente, a fin de cumplir con las necesidades de las especies y el protocolo experimental. Idealmente, cada sala donde se guarden los animales debería tener su propio sistema de control. En las instalaciones no originalmente construidas con este sistema, es posible mediante un manejo apropiado, instalar cronómetros automáticos de iluminación, reóstatos, ventiladores de escape con control termostático, humidificadores, y unidades de aire acondicionado.

1. Temperatura

Los datos publicados sobre temperaturas óptimas para alojar animales de laboratorio son variables (CCAC, 1984; Clough, 1984; NRC, 1985). Fueron considerados cuando se publicaron las directrices del Consejo de Europa (European Convention, 1986).

Es esencial que equipos de emergencia estén disponibles para mantener las temperaturas ambientales, particularmente en salas que alojan animales pequeños de laboratorio, peces, y primates no humanos (PNH).

En casos especiales, por ejemplo, cuando se alojan animales muy jóvenes o sin pelo, puede ser necesario mantener temperaturas en las salas más altas que las indicadas en el Anexo I.

Las temperaturas en las salas de los animales deben ser controladas diariamente y, preferentemente, registradas 24 horas por día. Otra alternativa mucho más barata es el uso de un termómetro máxima/mínima, que se examina y se reajusta todos los días. Sin embargo, esto no indica cuanto tiempo la sala estuvo mantenida a una temperatura en particular, y es sumamente importante saberlo (McSheehy, 1983). Si las prácticas de manejo o el protocolo experimental

requieren que un animal sea alojado a temperaturas fuera de las variaciones recomendadas, se le debe dar el tiempo necesario para adaptarse (Baker, Lindsey y Weisbroth, 1979). La temperatura del micro ambiente deberá también ser controlada. Los factores que afectan la temperatura en la jaula incluyen el tipo de jaula y el material de la cama o de nidación, el uso de tapas filtros, la edad, el sexo, la sepa, las especies y la densidad de alojamiento (Woods, 1980; Corning, 1992).

Las temperaturas ambientales y sus variaciones pueden afectar la investigación y las pruebas con los animales, hasta llegar a influir la respuesta de un animal a drogas, la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas, la fertilidad, la producción, la toma de agua y de alimentos, las curvas de crecimiento, y los parámetros hematológicos (Baker, Lindsey y Weisbroth, 1979; Lindsey, 1978; Yamauchi, 1981). Ocasionalmente, la temperatura óptima para el animal de experimentación no es la más cómoda para el personal; sin embargo, las preferencias humanas no deberían comprometer los requerimientos experimentales o la salud y comodidad del animal.

2. Humedad

La mayoría de los animales de laboratorio prefieren una humedad relativa alrededor de 50%, pero pueden tolerar variaciones de 40-70% mientras sea de manera relativamente constante y que las variaciones de temperatura sean adecuadas (Clough, 1987). Resulta en un malestar para el animal cuando los niveles de humedad afectan su capacidad para mantener su homeostasis térmica. En las instalaciones donde es difícil de controlar el control de la humedad dentro de variaciones aceptables, puede ser necesario instalar deshumidificadores o humidificadores.

Los niveles de humedad pueden afectar los resultados experimentales, influyendo la regulación de la temperatura, el desempeño del animal, y la susceptibilidad a las enfermedades.

3. Ventilación

La ventilación influye la temperatura, la humedad, las partículas gaseosas y contaminantes en las jaulas y locales de los animales. El diseño del sistema de ventilación del edificio debe permitir el mantenimiento de estos parámetros dentro de límites aceptables. El índice requerido de circulación de aire varía según diferentes factores, principalmente la edad de los animales, el sexo, la especie, la densidad de la población, la frecuencia de la limpieza, la calidad del aire que entra desde afuera, la humedad y la temperatura del medio, y la construcción de cercados primarios y secundarios. Se recomienda usualmente una frecuencia de 15-20 cambios de aire por hora (sin corrientes de aire) para salas alojando animales pequeños de laboratorio en condiciones convencionales (Clough, 1984). Pero tal frecuencia no garantiza la ventilación adecuada al nivel de la jaula, particularmente si se usan tapas filtros (Keller, White, Sneller *et al.* 1989). Los aparatos y los locales con flujo laminar proveen una buena ventilación con una circulación de aire unidireccional sin demasiadas corrientes o torbellinos de aire. Estos sistemas pueden aislar eficientemente las jaulas entre ellas y controlar la diseminación de olores y agentes patógenos transportados en el aire (Phillips y Runkle, 1973; McGarrity y Coriell, 1976).

Las diferencias de presión del aire pueden usarse para inhibir el pasaje de agentes patógenos entre salas. Presiones más altas se usan en áreas limpias unidas con áreas sucias o con riesgos biológicos, a fin de minimizar las contaminaciones (Hessler y Moreland, 1984). En las instalaciones donde el confinamiento y la exclusión de microorganismos del aire dependen en parte de las diferencias de presión de aire, se pueden utilizar manómetros o varillas graduadas magnéticas inclinadas para medir la diferencia entre las presiones altas y bajas en milímetros de agua. Generalmente, se debe mantener una diferencia de 2.5-5.0 mm (0.1-0.2 pulgadas) (Small,

1983).

El diseño del sistema de ventilación debe tomar en cuenta la conservación de energía (Besch, 1980). Aunque sean preferibles los sistemas que cambian el aire, no son especialmente económicos en regiones con temperaturas extremas (Hessler, 1984). Los sistemas de recirculación de aire deben ser dotados con filtros eficaces (y depuradores de aire, si necesario) para evitar la diseminación de enfermedades y para quitar partículas y contaminantes gaseosos (p. ej., NH₃) (Hessler, 1984).

4. Iluminación

Las tres características de iluminación que pueden influir sobre los animales de laboratorio son la intensidad, la calidad, y el fotoperiodo. La iluminación debe proveer una buena visibilidad y una luz uniforme y sin reflejos. Las recomendaciones previas de 807-1345 lux (75-125 pc) a 76 cm del piso ocasionaron degeneración de la retina en ratas albinas (Belhorn, 1980; NRC, 1985; Semple-Rowland y Dawson, 1987). El nivel recomendado de 323 lux (30 pc) aproximadamente a 1m del piso fue juzgado suficiente para el desempeño de tareas de rutina con los animales y no ocasiona retinopatía fototóxica en los roedores (Belhorn, 1980). Un nivel de aproximadamente 200 lux no parece causar daños a la retina y se ha demostrado que era adecuado para la reproducción y el comportamiento social normal entre la mayoría de los roedores (Weihe, 1976). A este nivel, una fuente de iluminación adicional controlada por un interruptor separado es necesaria para mejorar la iluminación durante las actividades de mantenimiento.

La intensidad luminosa experimentada por animales alojados cerca de la fuente puede diferir notablemente con la que experimentan otros más alejados, porque la intensidad es inversamente proporcional al cuadrado de la distancia de la fuente luminosa. Además, dicha intensidad dentro de una jaula depende de la construcción y del tipo de jaula, de la posición de la jaula sobre el soporte, del tipo de soporte, y puede variar notablemente desde el frente hacia atrás (McSheehy, 1983). La intensidad luminosa puede influir sobre la agresividad y la incidencia de canibalismo en roedores (Weihe, 1976; Fall, 1974). Los cambios graduales entre los períodos de oscuridad y claridad dan tiempo para el ajuste del comportamiento y la expresión de comportamientos crepusculares. Los peces y los anfibios pueden tomar hasta treinta minutos para su adaptación intraocular a los cambios de intensidad luminosa (Allen, 1980).

Existen pocos estudios sobre el efecto de la calidad de la luz o del espectro luminoso sobre animales de laboratorio. Se ha constatado que la iluminación en las salas donde se alojan animales deberían tener en la medida de lo posible las características de la luz solar. Hay algunos desacuerdos sobre si esto es necesario en todos los casos (Belhorn, 1980; Small, 1983). En los roedores de laboratorio, un espectro luminoso que difiera notablemente de la luz del sol puede reducir el rendimiento de la crianza, ocasionar anomalías del comportamiento y favorecer el desarrollo espontáneo de tumores (Weihe, 1976). Niveles altos de ultravioleta (UV) pueden inducir cataratas en ratones de laboratorio (Belhorn, 1980). La longitud de onda a la cual los guppys están expuestos influye la fecundidad y tiene repercusiones sobre el desarrollo y relación de sexo de los recién nacidos (Mulder, 1971). La exposición a la luz ultravioleta puede ocasionar daños epiteliales en algunas especies sensibles a agentes fotosensibilizadores. Las ondas electromagnéticas fuera del espectro visible pueden influir el comportamiento y la actividad de ratas de laboratorio (Mulder, 1971). Tubos de iluminación que imitan el espectro de la luz del sol están disponibles comercialmente.

El fotoperiodo es probablemente la característica de la luz que influye más a los animales de laboratorio. Tiene una influencia sobre los ritmos circadianos encontrados en los aspectos bioquímicos, fisiológicos, y de comportamiento en los modelos animales estimulados y sincronizados mediante la vía neuroendocrina. El ciclo circadiano puede afectar la respuesta del

animal a drogas o su resistencia a organismos infecciosos inoculados (McSheehy, 1983). La relación luz/oscuridad puede afectar el desempeño reproductivo y la madurez sexual. Se cree que si un cambio ocurre en el fotoperiodo de un animal, no se deben ejecutar experiencias con él durante por lo menos una semana (Davis, 1978). Si el período de luz está interrumpido por la oscuridad, hay pocos efectos importantes; por lo contrario, si ocurre el revés, los ritmos endógenos pueden ser significativamente afectados (Davis, 1978). Eso es una razón para tener cronómetros automáticos para controlar ciclos de luz en todas las salas donde se alojan animales. La pauta horaria establecida debería controlar o engancharse a un sistema de alarma. Además, debe ser posible cerrar totalmente todas las ventanas de los locales.

Las diferencias en la luz, la temperatura y el flujo de aire entre las jaulas sobre los estantes pueden afectar los resultados experimentales y deberían ser minimizados al rotar las jaulas en diferentes posiciones sobre los estantes, o asignando a los animales en las jaulas basadas en una tabla de números aleatorios.

B. OTROS FACTORES AMBIENTALES

1. Ruido

Los efectos del ruido sobre animales de laboratorio dependen de su intensidad, su frecuencia, la rapidez de aparición, su duración y las características del animal (especies, cepa, antecedentes de exposición al ruido). La sensibilidad y susceptibilidad auditiva al ruido que conduce a la sordera difiere según la especie. La exposición prolongada a niveles altos de ruido puede ocasionar en animales lesiones auditivas. Aunque fue recomendado un ruido máximo de fondo de 85 dB (Baker, 1979), ocurrieron cambios adversos en ratas expuestas a ruidos intermitentes de 83 dB (Gerber, Anderson y Van Dyne, 1966). La exposición a patrones uniformes de estímulo puede conducir más rápidamente a la pérdida del oído, mientras que la exposición a patrones irregulares puede probablemente ocasionar desórdenes debidos a la activación repetida del sistema neuroendócrino (Peterson, 1980).

Un ruido intenso puede ocasionar alteraciones en los sistemas gastrointestinales, inmunológicos, reproductivos, nerviosos, y cardiovasculares, como así también cambios en el desarrollo, el nivel de hormonas, la estructura suprarrenal, el número de los glóbulos sanguíneos, el metabolismo, el peso de los órganos, la ingestión de alimentos y el comportamiento (Agnes, Sartorelli, Abdi *et al.* 1990; Bailey, Stephens y Delaney, 1986; Fletcher, 1976; Kraicer, Beraud y Lywood, 1977; Nayfield y Besch, 1981; Pfaff, 1974; Gerber y Anderson, 1967). Ruidos intensos y súbitos pueden provocar sobresaltos y acelerar la aparición de crisis epileptiformes en varias especies y cepas de animales de laboratorio (Iturrian, 1971; Pfaff, 1974). Emisiones de ultrasonidos pueden ocasionar perturbaciones al comportamiento en una variedad de especies (Algers, 1984). Aunque no se establecieron criterios firmes para la tolerancia al ruido en los animales de laboratorio como se hizo para el hombre (Falk, 1973; Welch y Welch, 1970), se puede presumir que ruidos innecesarios y excesivos constituyen una variable experimental importante y un peligro posible para la salud.

El ruido se puede controlar en los bioterios mediante un diseño y construcción apropiada, una selección atenta del equipo, buenas prácticas y manejo adecuado. Los animales naturalmente ruidosos deben ser ubicados a donde no molestarán las especies más tranquilas y sensibles al ruido. Los alarmas de incendio que operan a baja frecuencia son perceptibles por el hombre, pero no perturban ratones y ratas. Los teléfonos no deben ser puestos en las salas de los animales. Muchas fuentes de ruido en los bioterios emiten ultrasonidos (Sales, Wilson, Spencer *et al.* 1988). Estas incluyen grifos que gotean y sillas que chirrían. Debemos hacer esfuerzos para identificar y corregir estas fuentes de ruido.

El ruido puede también perturbar o perjudicar el personal de los bioterios, los investigadores, y a otras personas que trabajan cerca. Puede ser necesario proveer protectores de tímpanos a las personas que trabajan con algunos tipos de animales tales como: perros, cerdos, monos, o en salas donde se limpian las jaulas.

2. Productos químicos

Los productos químicos en el ambiente pueden causar de muchas maneras problemas al animal de laboratorio. Los compuestos o metabolitos tóxicos pueden en sí tener efectos locales o sistémicos sobre más o menos todas las especies. Aunque muchos de los productos químicos que se pueden encontrar en los bioterios pueden ser responsables de desarreglos en la actividad enzimática microsómica del hígado, se detectaron otros problemas a nivel de la función inmunitaria o del comportamiento, de los alérgenos, mutagénesis, teratogénesis y carcinogénesis. Los efectos son modulados por la interacción entre factores químicos (la concentración; las propiedades fisicoquímicas; la duración, la frecuencia y vía de exposición; la interacción con otros agentes) y factores del huésped (especie, edad, sexo, cepa, estado nutricional, función inmunitaria y estado de salud) (Baker, Lindsey y Weisbroth, 1979).

Los productos químicos llegan al micro ambiente mediante el aire, el agua, los alimentos, la cama y las superficies de contacto. Los contaminantes comunes del aire incluyen las partículas y polvo de cama, los desinfectantes con amoníaco, las feromonas, los solventes orgánicos, los anestésicos volátiles, los insecticidas, y perfumes o desodorantes.

El contaminante del aire más importante en las salas con animales es el amoníaco (NH_3) que proviene de la descomposición de residuos nitrogenados (Broderson, Lindsey y Crawford, 1976). El amoníaco causa irritación del epitelio respiratorio y aumenta la susceptibilidad de los roedores a la micoplamosis respiratoria (Broderson, Lindsey y Crawford, 1976; Lindsey, Connor y Baker, 1978). Cambios patológicos subclínicos en el sistema respiratorio debido al amoníaco, complican los estudios de toxicidad por inhalación en roedores de laboratorio (Gamble, 1976). En humanos, 25 ppm o menos no tiene efectos nocivos con una exposición de 8 horas/día, 5 días/semana [American Conference of Government and Industrial Hygienists Threshold Limit Value (TLV, en inglés)]. El umbral de detección del olor en los humanos es de 8 ppm, en comparación con un valor limitado del umbral de VLU es 17 mg/m^3 .

El micro ambiente del animal debe ser verificado así como también la sala, porque las condiciones difieren a menudo y significativamente entre los dos (Corning y Lipman, 1992). Los niveles de amoníaco aumentan cuando las estructuras de producción (especie, sexo, densidad de población, cama) exceden las estructuras de eliminación (diseño de la jaula, cambio de aire, frecuencia de la limpieza) (Serrano, 1971). La tapa filtro que reduce el cambio de aire al nivel de la jaula, puede conducir rápidamente a concentraciones nocivas de NH_3 . El control del NH_3 dentro de niveles seguros requiere una atención constante de la densidad del abastecimiento de aire y la frecuencia de limpieza de la jaula.

Nunca se deben usar perfumes y desodorantes para enmascarar los olores de amoníaco u otros olores animales en lugar de una limpieza apropiada. Estas sustancias pueden ser nocivas para los animales (Baker, Lindsey y Weisbroth, 1979; Pakes, Lu y Meunier, 1984). Los anestésicos volátiles deberían usarse solamente con aparatos apropiados de depuración.

Pueden entrar en el ambiente del animal productos químicos mediante el agua. Además de la verificación de los contaminantes bacterianos y salvo en los animales acuáticos, la calidad del agua raramente está controlada se usa habitualmente el agua clorada de los municipios. Más de 700 compuestos orgánicos fueron aislados de tales fuentes - 90% son productos naturales de descomposición. Estos pueden reaccionar con el cloro para producir cloroformo (Pakes, Lu y Meunier, 1984). Soluciones inorgánicas, particularmente el cobre (que proviene de caños de

cobre) y el cloro, son especialmente peligrosos para los organismos acuáticos.

Los alimentos pueden ser contaminados por metales pesados (p. ej., plomo, arsénico, cadmio, níquel, mercurio), por toxinas naturales (p. ej., micotoxinas, alcaloides del tizón, alcaloide de la pirolizidina, compuestos estrogénicos), por productos agrícolas químicos (p. ej., herbicidas, plaguicidas, fertilizantes), y aditivos (p. ej., antibióticos, colorantes, agentes de conservación, condimentos, drogas incorporadas involuntariamente) (Baker, Lindsey y Weisbroth, 1979; Pakes, Lu y Meunier, 1984; Silverman y Adams, 1983).

Los productos químicos que se encuentran sobre las superficies de contacto incluyen los agentes de limpieza tales como: jabones, agentes líquidos, detergentes, solventes y desinfectantes (Burek y Schwetz, 1980). Al menos que no sea especificado en el modo de uso recomendado por el fabricante y que la sustancia no presenta ningún riesgo, estas sustancias deberán ser completamente enjuagadas en las superficies con las cuales los animales entran en contacto. La eficacia del ciclo de enjuague del lavador de jaula debe ser verificado periódicamente.

El material que compone la cama, particularmente los productos de madera, pueden introducir aceites volátiles naturales, herbicidas, plaguicidas y agentes de conservación en el micro ambiente del animal. Otros contaminantes posibles incluyen los PCB y antibióticos (Silverman y Adams, 1983). Los hidrocarburos volátiles contenidos en las virutas del cedro y del pino pueden inducir la síntesis de enzimas hepáticas microsómicas (Weisbroth, 1979).

3. Cama

La elección de materiales de cama y de fondo de jaula puede influir profundamente el micro ambiente de los pequeños roedores. En la mayoría de los casos, se recomienda cama de contacto. Se debe proveer para la mayoría de las especies animales, un fondo lleno y una cama antes del parto. Algunas características deseables de la cama de contacto se enumeran más adelante.

Se debe siempre tomar en consideración el material de cama cuando se elabora un protocolo experimental, y usar los mismos a lo largo del estudio, dada su influencia sobre las respuestas de comportamiento y fisiológicas, y sobre la toxicidad y de carcinogénesis.

Las camas no esterilizadas son una fuente posible para la introducción de enfermedades en colonias de roedores. Los roedores silvestres gustan anidar en las bolsas de cama, y los gatos podrán defecar en la cama floja (Newman y Kowalski, 1973). Se discute en el Volumen 2 de este *Manual* de los materiales de cama recomendados para cada especie.

4. Densidad de población y limitaciones de espacio

La densidad de población y el tamaño de los grupos influyen el estado fisiológico y psicológico de los animales y pueden afectar profundamente las respuestas experimentales (Baer, 1971; Clough, 1976). La productividad, el crecimiento y el comportamiento de los ratones de laboratorio pueden ser seriamente alterados por variaciones solo en la superficie del piso. La supervivencia y crecimiento de los ratoncillos, tanto como el comportamiento maternal, pueden ser

CRITERIOS DESEABLES PARA LA CAMA DE CONTACTO DE LOS ROEDORES (Kraft, 1980)

Absorbe la humedad Exenta de polvo No permite el crecimiento bacteriano No comestible No mancha No ocasiona traumatismos Fija el amoníaco Se puede esterilizar No forma productos indeseables después de la esterilización Fácil de almacenar No es 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 Apropiada a la incineración Fácil de obtener Relativamente barata Resistente al fuego Químicamente estable a lo largo del uso Uniformidad entre los lotes Optimiza el comportamiento normal No es perjudicial para los lavajaulas No presenta peligro o riesgos para el personal
---	--

afectados negativamente por superficies de piso demasiado grandes. La mortalidad de los recién nacidos en jaulas grandes puede ocurrir por la incapacidad de las hembras para alimentar a los jóvenes, debido a la inhibición del desarrollo mamario. El comportamiento de nidación en las ratas esta muy perturbado en los cercados adonde hay una gran densidad poblacional, lo que se traduce por una tendencia creciente a ignorar a los jóvenes y por la mortalidad infantil. La densidad puede afectar la eficiencia en la toma de alimentos y la incidencia de lesiones de piel (Les, 1968, 1972).

El estrés de aislamiento puede resultar en un incremento de la nerviosidad, la agresividad, la susceptibilidad a convulsiones y a algunas drogas, el metabolismo y la actividad córtico-suprarrenal (Balazs y Dairman, 1967; Hatch, Weiberg, Zawidzka *et al.* 1965; Moore, 1968). Siempre y cuando sea posible, el tipo de alojamiento y las densidades animales deben ser uniformes a lo largo de un estudio. Se pueden obtener detalles adicionales sobre el alojamiento adecuado (véase también Instalaciones para animales de laboratorio). Los requerimientos de cada especie se discuten en el Volumen 2 de este *Manual* (véase también Las necesidades sociales y comportamentales de los animales de experimentación). Las densidades recomendadas de alojamiento se enumeran en Anexo I.

C. CONTROL MICROBIOLÓGICO

Los efectos que los agentes microbianos pueden tener sobre los resultados experimentales y la salud de los animales de laboratorio fueron ampliamente documentados (Baker, Lindsey y Weisbroth, 1979; Lindsey, Connor y Baker, 1978; Pakes, Lu y Meunier, 1984). Es necesario el control del estado microbiológico de un animal experimental y de su ambiente para obtener resultados científicos válidos y garantizar el bienestar animal. Las fuentes de contaminación microbiana incluyen las pestes, los animales de laboratorio infectados experimentalmente y los enfermos espontáneamente o sus tejidos o tumores, el aire, los alimentos, el agua, la cama, el equipo auxiliar y el personal. Hay que tener un buen manejo de las instalaciones y ejercer una vigilancia constante para minimizar la introducción de microbios indeseables. Se debe además ejercer un estricto control sobre los insectos y las pestes (roedores) o eliminarlos de las instalaciones (Small, 1983).

Se debería establecer cuando sea posible la condición de salud de todos los animales,

idealmente antes de llevarlos a las instalaciones. Los animales de condición sanitaria desconocida se deberían poner en cuarentena y someter a pruebas antes de admitirlos en las instalaciones (Loew y Fox, 1983). Además, todas las líneas celulares y los tumores se deberían probar antes de ser utilizadas (Small, 1984). Las investigaciones sobre enfermedades contagiosas deben efectuarse en las instalaciones de contención apropiadas (vea 3. más adelante).

El veterinario encargado de los animales de laboratorio debe ser consultado sobre la vigilancia rutinaria del estado de salud de los animales en el bioterio, ya que es importante averiguar el estado microbiológico para la publicación de resultados experimentales y para minimizar contaminación entre áreas (Baker, Lindsey y Weisbroth, 1979). El uso de animales centinelas es un método probado, sensible y práctico en un programa de vigilancia sanitaria animal (Loew y Fox, 1983). Los programas de vigilancia deben considerar la fuente y la especie animal, las prácticas de manejo animal, la naturaleza de la investigación efectuada, y la asociación de personal con animales de laboratorio en otros locales. La eficacia de las condiciones sanitarias del equipo y de las jaulas debería probarse periódicamente por medio de cultivos microbianos, como también comprobando indicadores físicos (Baker, Lindsey y Weisbroth 1979; Small, 1983). También se deben hacer periódicos cultivos sobre los alimentos, el agua y la cama. La frecuencia e intensidad de la vigilancia microbiológica depende del manejo animal, del nivel de confianza deseado, de los factores de riesgo asociados, y de consideraciones económicas, además de los factores ya mencionados (Small, 1984).

Se debe informar el personal sobre las precauciones que deben tomarse para evitar la introducción de enfermedades en las instalaciones. Las precauciones específicas variarán entre áreas e instalaciones, dependiendo de la naturaleza de la instalación, la condición de los animales y el tipo de investigación en curso. La cooperación de todo el personal que trabaja con animales, en ambos sectores del cuidado y de las actividades experimentales, es esencial para el mantenimiento de las instalaciones y de los estándares científicos.

1. Instalaciones convencionales

Una instalación o una sala son de tipo convencional cuando no están diseñados especialmente para los procedimientos de aislamiento. Una unidad de aislamiento puede operar de manera convencional si no se emplean las prácticas de manejo de aislamiento. Las prácticas siguientes reducen la probabilidad de contaminación en una facilidad convencional:

- El personal debe tener ropa limpia y mamelucos en las instalaciones.
- El personal debe lavarse las manos al entrar y al salir de una sala.
- No se permiten ningún movimiento de personal y de equipo entre salas que alojan animales de condición microbiana diferente, sin tomar las precauciones apropiadas.
- Los animales que entran en instalaciones compartidas, tales como los laboratorios, las salas de cirugía, de irradiación, etc., no deben volver a la sala de alojamiento a menos que el equipo y sala compartida hayan sido desinfectados entre los grupos de animales.
- Se deben aplicar las prácticas de limpieza y de mantenimiento sanitario, tal como han sido descritas en El cuidado de los animales de laboratorio.

2. Instalaciones barrera

Los animales gnotobióticos, las colonias SPF, las colonias de animales utilizadas en estudios sobre el envejecimiento, y los animales inmunodeficientes o inmunosuprimidos, requieren un nivel más alto de control del ambiente microbiano que el control ejercido en los locales de alojamiento convencional (Hessler y Moreland, 1984). El alojamiento bajo barreras impide la

introducción de agentes infecciosos y evita infectar a los animales. Se pueden establecer barreras tanto a nivel de una sala como en la producción comercial a gran escala de roedores libres de enfermedades; alrededor de grupos de jaulas en lo que concierne a los gnotobióticos o los núcleos de colonias de crianza mantenidas en cajas de aislamiento de paredes flexibles y adaptables; o al nivel de las jaulas individuales y de micro aislamiento.

Los sistemas de barrera cerrados emplean variaciones de los siguientes principios:

- La sala, el aislador, o la jaula de aislamiento se esteriliza química o físicamente antes de la entrada de los animales, de las provisiones o del equipo.
- Los animales penetran a través de las entradas del aislador, o por los contenedores de transporte, a fin de prevenir la contaminación.
- Todos los demás materiales, provisiones y equipos, se esterilizan antes de atravesar las barreras.
- Los sistemas efectivos de salida y entrada incluyen autoclaves de doble puerta, cámaras de traslado esterilizadas de doble puerta, o tanques de remojo germicida.
- Las salidas de las grandes barreras pueden hacerse mediante compartimentos estancos, cuando el escape de aire que viene desde adentro es fuerte.
- Antes de entrar por una barrera grande, el personal debe ducharse, vestirse con ropa estéril, y colocarse un sombrero o cofia, máscara o barbijo y guantes.
- Se tiene acceso al interior de aisladores menores mediante guantes de goma o de neoprene sellados a la unidad de aislamiento.
- El aire entrante se pasa a través de filtros de aire de alta eficiencia (HEPA, en inglés) y las presiones de aire se equilibran cuidadosa y continuamente para impedir un retorno de aire en la barrera.
- El agua se esteriliza por filtración, rayos ultravioleta, acidificación o autoclave.
- Los alimentos y la cama son esterilizados mediante autoclave o irradiados antes de entrar por la barrera.
- Se deben usar dietas enriquecidas especiales si los alimentos están esterilizados mediante autoclave (Hessler y Moreland, 1984).

Las jaulas de micro aislamiento se usan generalmente para proteger a los animales en salas convencionales. Con estaciones de cambio de caja a flujo laminar, y con procedimientos especiales de manejo (esterilización de los alimentos, el agua, la cama, etc.), los animales altamente susceptibles a enfermedades, tales como los ratones que sufren de inmunodeficiencia combinada severa (SCID, en inglés), pueden mantenerse exitosamente en una sala convencional. Sin embargo, se debe mantener una vigilancia microbiológica rigurosa y averiguar previamente la condición de salud de los animales alojados en sistemas de barrera.

3. Confinación de riesgo biológico

Se deben encerrar los animales expuestos a microorganismos infecciosos conocidos. Los procedimientos de confinación y de manejo varían según la clasificación de los riesgos biológicos de los microorganismos, basada en el grado de riesgo para el hombre y otros animales (HC, 1996). Se puede requerir del personal que tome una ducha antes de salir de la unidad de contención. Todas las jaulas y los materiales estarán esterilizados antes de dejar la área. Las presiones de aire estarán equilibradas para que la presión más alta se encuentra afuera de la área de contención. El aire que sale de la instalación se diluye con aire limpio, filtrado, o esterilizado. Ya que los rayos ultravioletas presentan riesgos para el personal y los animales, generalmente no se recomiendan para la desinfección del aire en el laboratorio. La unidad de enfermedades

infecciosas debería ser aislada del bioterio tanto como fuera posible. Los requerimientos específicos difieren con el grado de riesgo. Según el riesgo, la contención de grupos pequeños de animales puede realizarse con aisladores de paredes flexibles transparentes o con jaulas a micro aislamiento. El uso de soportes de jaulas a flujo laminar tiene el propósito de prevenir la contaminación cruzada entre las jaulas, y debe ser evaluado con cuidado, ya que en algunas circunstancias la propagación de algunos agentes patológicos puede ser favorecida (Clough, 1973). Las unidades de enfermedades infecciosas deben ser desinfectadas inmediatamente después del uso. Las recomendaciones para el control de los riesgos biológicos pueden ser encontrados en el libro Guías para la Bioseguridad en Laboratorios, Laboratory Biosafety Guidelines (HC, 1996) y en otras partes (Barkley y Richardson, 1984). Para las manipulaciones experimentales deben ser utilizados gabinetes biológicos de seguridad aprobados y adecuados al nivel de riesgo biológico. Estos gabinetes deben ser inspeccionados y probados anualmente por personal calificado (HC, 1996). Las personas que trabajan en las unidades de enfermedades infecciosas deben protegerse con un programa completo de salud y de seguridad del trabajo.

D. ÁREAS DE UTILIZACIÓN DE PRODUCTOS QUÍMICOS Y DE LOS ISÓTOPOS RADIOACTIVOS

En Canadá, el uso en laboratorio de isótopos radioactivos es regulado por la Comisión de Control de la Energía Atómica (CCEA), de acuerdo con los reglamentos de control específicos. La CCEA emite permisos a las instituciones para la posesión de material radioactivo. Cuando isótopos radioactivos están siendo utilizados SOP, son evaluados y la CCEA emite un permiso para la utilización experimental del isótopo Radio en los animales. Se deben aplicar y definir procedimientos operativos estandarizados (SOP, en inglés) para asegurarse que los riesgos inherentes son minimizados. Además, la CCEA recomienda que el responsable de la seguridad de las radiaciones de la institución participe en el Comité de Seguridad y de Salud laboral como miembro *ex-officio*.

El sistema de información sobre las materias peligrosas utilizadas en el trabajo está reglamentado por las autoridades federales y provinciales de salud y de seguridad. Ellas legislan sobre las cuestiones de exigencias de etiquetado, la disponibilidad de los datos escritos relativos a la Ficha técnica salud-seguridad y los programas de formación necesarios para que el personal trabaje de manera segura con algunas substancias riesgosas.

Las áreas de riesgos químicos y de radiación deben estar separadas de los locales de alojamiento y de trabajo. Las áreas de trabajo deben ser claramente identificadas y su ingreso debe ser reservado al personal autorizado. No se deben llevar las cajas contaminadas a los pasillos. Si es necesario, se deben desarrollar procedimientos y equipamientos de transporte seguros. Se recomienda la utilización de estaciones de cambio de jaulas a flujo laminar a fin de proteger al personal contra los contaminantes en aerosol (Hessler y Moreland, 1984) (véase también Salud y seguridad en el trabajo).

E. REFERENCIAS

AGNES, F., SARTORELLI, P., ABDI, B.H. and LOCATELLI, A. Effect of transport loading or noise on blood biochemical variables in calves. *Am. J. Vet. Res.* 1990; 51: 1679-1681.

ALGERS, B. A note on behavioural responses of farm animals to ultrasound. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1984; 12: 387-391.

ALLEN, D.M. A device providing gradual transitions between light and dark periods in the animal

room. *Lab. Anim. Sci.* 1980; 30: 252-254.

BAER, H. Long-term isolation stress and its effects on drug response in rodents. *Lab. Anim. Sci.* 1971; 21: 341-349.

BAILEY, K.J., STEPHENS, D.B. and DELANEY, C.E. Observations on the effects of vibration and noise on plasma ACTH and zinc levels, pregnancy and respiration rate in the guinea pig. *Lab. Anim.* 1986; 20: 101-108.

BAKER, H.J., LINDSEY, J.R. and WEISBROTH, S.H. Housing to control research variables. In: Baker, H.J., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.H., eds. *The laboratory rat*. Toronto, Ont.: Academic Press, 1979(1): 169-192.

BALAZS, T. and DAIRMAN, W. Comparison of microsomal drug-metabolizing enzyme systems in grouped and individually caged rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1967; 10: 409-410.

BARKLEY, W.E. and RICHARDSON, J.H. Control of biohazards associated with the use of experimental animals. In: Fox, J.G., Cohen, B.J. and Loew, F.M., eds. *Laboratory animal medicine*. Toronto, Ont.: Academic Press, 1984: 595-602.

BELHORN, R.W. Lighting in the animal environment. *Lab. Anim. Sci.* 1980; 30: 440-450.

BESCH, E.L. Environmental quality within animal facilities. *Lab. Anim. Sci.* 1980; 30: 385-406.

BRODERSON, J.R., LINDSEY, J.R. and CRAWFORD, J.E. The role of environmental ammonia in respiratory mycoplasmosis of rats. *Am. J. Path.* 1976; 85: 115-127.

BUREK, J.D. and SCHWETZ, B.A. Considerations in the selection and use of chemicals within the animal facility. *Lab. Anim. Sci.* 1980; 30: 414-421.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. Guide to the care and use of experimental animals. Vol. 2, Ottawa, Ont.: CCAC, 1984.

CLOUGH, G., HILL, A. and BLACKMORE, D.K. Evaluation of a filter rack for laboratory rodents. *Lab. Anim.* 1973; 7: 149-159.

CLOUGH, G. The immediate environment of the laboratory animal. In: McSheehy, T., ed. *Control of the animal house environment*. Laboratory animal handbook 7. Buckden Huntingdon, Cambs., U.K.: Laboratory Animals Ltd., 1976: 77-94.

CLOUGH, G. Environmental factors in relation to the comfort and well-being of laboratory rats and mice. *Proc. of LASA-UFAW (Universities Federation for Animal Welfare) Symposium "Standards in Laboratory Animal Management"* UFAW, 1984(1): 60-64.

CLOUGH, G. The animal house: design, equipment and environmental control. In: Poole, T., ed. *UFAW (Universities Federation for Animal Welfare) handbook on the care and management of laboratory animals*. 6th Ed. Harlow, Essex: Longman Scientific and Technical, 1987.

CORNING, B.F. and LIPMAN, N.S. A comparison of rodent caging systems based on

microenvironmental parameters. *Lab. Anim. Sci.* 1992; 41: 498-503.

DAVIS, D.E. Social behavior in a laboratory environment. In: National Research Council Institute of Laboratory Animal Resources. *Laboratory animal housing*. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1978: 44-64.

EUROPEAN CONVENTION FOR THE PROTECTION OF VERTEBRATE ANIMALS USED FOR EXPERIMENTAL AND OTHER SCIENTIFIC PURPOSES. Appendix A: Guidelines on accommodation and care. Report No. 123, HMSO, London 1986.

FALK, S.A. and WOODS, N.F. Hospital noise levels and potential health hazards. *New Eng. J. Med.* 1973; 289: 774-781.

FALL, M.W. The use of red light for handling wild rats. *Lab. Anim. Sci.* 1974; 24: 686-687.

FLETCHER, J.L. Influence of noise on animals. In: McSheehy, T., ed. *Control of the animal house environment*. *Laboratory animal handbook 7*. Huntingdon, U.K.: Laboratory Animals Ltd., 1976.

GAMBLE, M.R. and COUGH, G. Ammonia buildup in animal boxes and its effect on rat tracheal epithelium. *Lab. Anim.* 1976; 10: 93-104.

GERBER, W.F., ANDERSON, T.A. and VAN DYNE, V. Physiologic response of the albino rat to chronic noise stress. *Arch. Environ. Health* 1966; 12: 751-754.

GERBER, W.F. and ANDERSON, T.A. Cardiac hypertrophy due to chance audiogenic stress in the rat, *Rattus norvegicus* and rabbit, *Lepus cuniculus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1967; 21: 273-277.

HATCH, A.M., WIBERG, G.S., ZAWIDZKA, Z., CANN, M., AIRTH, J.M. and GRICE, H.C. Isolation syndrome in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1965; 7: 737-745.

HEALTH CANADA. *Laboratory biosafety guidelines*. Cat. No. MR 21-1/1996-E (2nd edn.). Ottawa, Ont.: Supply and Services Canada, 1996.

HESSLER, J.R. and MORELAND, A.F. Design and management of animal facilities. In: Fox, J.G., Cohen, B.J. and Loew, F.M., eds. *Laboratory animal medicine*. Toronto, Ont.: Academic Press, 1984: 505-526.

ITURRIAN, W.B. Effect of noise in the animal house on experimental seizures and growth in weanling mice. In: National Academy of Sciences. *Defining the laboratory animal*. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1971.

KELLER, L.S.F., WHITE, W.J., SNIDER, M.T. and LANG, C.M. An evaluation of intracage ventilation in three animal caging systems. *Lab. Anim. Sci.* 1989; 39: 237-242.

KRAFT, L.M. The manufacture, shipping, and receiving and quality control of rodent bedding materials. *Lab. Anim. Sci.* 1980; 30: 366-376.

KRAICER, J., BERAUD, G. and LYWOOD, D.W. Pars intermedia ACTH and MSH content: effect of adrenalectomy, gonadectomy and a neurotropic (noise) stress. *Neuroendocrinol.* 1977; 23: 352-367.

LES, E.P. Cage population density and efficiency of feed utilization in inbred mice. *Lab. Anim. Care* 1968; 18: 305-313.

LES, E.P. A disease related to cage population density, tail lesions and C3H/HeJ mice. *Lab. Anim. Sci.* 1972; 22: 56-60.

LINDSEY, J.R., CONNER, M.W. and BAKER, H.J. Physical, chemical, and microbial factors affecting biologic response. In: National Research Council/Institute of Laboratory Animal Resources. *Laboratory animal housing*. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1978: 44-64.

LOEW, F.M. and FOX, J.G. Animal health surveillance and health delivery systems. In: Foster, H.L., Small, J.D. and Fox, J.G., eds. *The mouse in biomedical research. III. Normative biology, immunology, and husbandry*. Toronto, Ont.: Academic Press, 1983: 83-100.

MCGARRITY, G.J. and CORIELL, L.L. Maintenance of axenic mice in open cages in mass airflow. *Lab. Anim. Sci.* 1976; 26: 746-750.

MCSHEEHY, T. Overview of the state-of-the-art in environmental monitoring. In: Melby, E.C. Jr. and Balk, M.W., eds. *The importance of laboratory animal genetics, health, and the environment in biomedical research*. Toronto, Ont.: Academic Press, 1983; 161-182.

MELBY, E.C. JR. and BALK, M.W., eds. *The importance of laboratory animal genetics, health, and the environment in biomedical research*. Toronto, Ont.: Academic Press, 1983.

MOORE, K.E. Studies with chronically isolated rats: tissue levels and urinary excretion of catecholamines and plasma levels of corticosterone. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1968; 46: 553-558.

MULDER, J.B. Animal behaviour and electromagnetic energy waves. *Lab. Anim. Sci.* 1971; 21: 389-393.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Committee on Care and Use of Laboratory Animals of the Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences. *Guide for the care and use of laboratory animals*. NIH Publication No. 85-23. Bethesda, MD: United States Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, 1985.

NAYFIELD, K.C. and BESCH, E.L. Comparative responses of rabbits and rats to elevated noise. *Lab. Anim. Sci.* 1981; 31: 386-390.

NEWMAN, E. and KOWALSKI, J.J. Fresh sawdust bedding - a possible source of Klebsiella organisms. *Am. J. Vet. Res.* 1973; 34: 979-980.

PAKES, S.P., LU, Y.S. and MEUNIER, P.C. Factors that complicate animal research. In: Fox, J.G., Cohen, B.J. and Loew, F.M., eds. *Laboratory animal medicine*. Toronto, Ont.: Academic

Press, 1984: 649-665.

PETERSON, E.A. Noise and laboratory animals. *Lab. Anim. Sci.* 1980; 30: 422-439.

PFAFF, J. Noise as an environmental problem in the animal house. *Lab. Anim.* 1974; 8: 347-354.

PHILLIPS, G.B. and RUNKLE, R.S. Biomedical applications of laminar airflow. Cleveland, OH: CRC Press, 1973.

SALES, G.D., WILSON, K.J., SPENCER, K.E.V. and MILLIGAN, S.R. Environmental ultrasound in laboratories and animal houses: a possible cause for concern in the welfare and use of laboratory animals. *Lab. Anim.* 1988; 22: 363-375.

SEMPLE-ROWLAND, S.L. and DAWSON, W.W. Retinal cyclic light damage threshold for albino rats. *Lab. Anim. Sci.* 1987; 37: 289-298.

SERRANO, L.J. Carbon dioxide and ammonia in mouse cages: effects of cage covers, population, and activity. *Lab. Anim. Sci.* 1971; 21: 75-85.

SILVERMAN, J. and ADAMS, J.D. N-nitrosamines in laboratory animal feed and bedding. *Lab. Anim. Sci.* 1983; 33: 161-164.

SMALL, J.D. Environmental and equipment monitoring. In: Foster, H.L., Small, J.D. and Fox, J.G., eds. *The mouse in biomedical research. III. Normative biology, immunology, and husbandry.* Toronto, Ont.: Academic Press, 1983: 83-100.

SMALL, J.D. Rodent and lagomorph health surveillance - quality assurance. In: Fox, J.G., Cohen, B.J. and Loew, F.M., eds. *Laboratory animal medicine.* Toronto, Ont.: Academic Press, 1984: 709-723.

WEIHE, W.H. The effect of light on animals. In: McSheehy, T., ed. *Control of the animal house environment. Laboratory animal handbook 7.* Buckden, Huntingdon, Cambs., U.K.: Laboratory Animals Ltd., 1976: 63-76.

WEISBROTH, S.H. Chemical contamination of lab animal beddings: problems and recommendations. *Lab. Animal Nov.-Dec.* 1979: 24-34.

WELCH, B.L. and WELCH, A.S., eds. *Physiological effects of noise.* New York, NY: Plenum Press, 1970.

WOODS, J.E. The animal enclosure - a microenvironment. *Lab. Anim. Sci.* 1980; 30: 407-413.

WORKING COMMITTEE FOR THE BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF LABORATORY ANIMALS/GV-SOLAS. Guidelines for specification of animals and husbandry methods when reporting the results of animal experiments. *Lab. Anim.* 1985; 19: 106-108.

YAMAUCHI, C., FUJITA, S., OBARA, T. and UEDA, T. Effects of room temperature on reproduction, body and organ weights, food and water intake, and hematology in rats. *Lab. Anim. Sci.* 1981; 31: 251-258.

