

## EVALUACIÓN DE SISTEMAS DE ALOJAMIENTO PARA RATONES INMUNODEFICIENTES BAJO EXPERIENCIA

Principi G, Maschi F, Laborde JM, Carriquiriborde M, Cagliada P, Carbone C

Cátedra de Animales de Laboratorio.  
Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de La Plata

**Resumen:** Las investigaciones que utilizan ratones inmunodeficientes requieren el uso de una infraestructura adecuada y estandarizada, que debe garantizar el mantenimiento correcto de estas cepas y asegurar la obtención de resultados confiables. El desarrollo y uso de equipamientos con tecnología destinada a controlar el macro y microambiente permite mantener pequeños grupos de animales en instalaciones en las que no se cuenta con barreras sanitarias absolutas. Uno es el aislador flexible (AF); y otro las estanterías con cajas individualmente ventiladas (CIV), ambos equipos independizan el microambiente del macroambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar las ventajas y desventajas de cada uno de estos sistemas de alojamiento para ratones inmunodeficientes. Durante un año se mantuvieron dos grupos de ratones de la cepa CBA/N-xid libres de patógenos específicos en un AF y en una ECIV respectivamente. Se realizaron controles microbiológicos del ambiente y de los animales. Se evaluó comparativamente el costo del equipamiento, montaje, mantenimiento, procedimientos de manejo, cuidados, capacidad, controles, durabilidad y espacio requerido. Los resultados demostraron que si bien existen diferencias entre los sistemas y en ambos se puede mantener adecuadamente roedores inmunodeficientes, las ECIV son más ventajosas a pesar de su costo elevado.

**Palabras Clave:** Aislador flexible, cajas individuales ventiladas (CIV)

## HOUSING SYSTEMS EVALUATION FOR IMMUNODEFICIENT MICE UNDER EXPERIENCE

**Abstract:** Immunodeficient mice strains maintenance requires special and standardized equipments in order to assure their quality and to obtain reliable experimental results. The development of new technologies and equipments used to control the animal macro and microenvironment in facilities with no barrier systems allow to house small number of rodents along the experiment. Flexible isolators (FI) and individual ventilated cages (IVC) represents two equipments that are able to control environmental factors. The aim of this study was to evaluate FI and IVC efficiency when they are used to keep immunodeficient mice. Two SPF CBA/N-xid mice groups were housed one year in a FI and in an IVC respectively. Environmental and animals microbiological monitoring was performed. The cost, construction, durability, space requirements, maintenance processes, monitoring and technical procedures were evaluated and compared. The results show that although differences among these equipments, both are suitable for the maintenance of immunodeficient mice. However, the results also show that the IVC, though expensive, have advantages over flexible isolators.

**Key Words:** Flexible film isolators, Individual ventilated cage (IVC)

Fecha de recepción: 10/03/11

Fecha de aprobación: 20/05/11

**Dirección para correspondencia:** G. Principi, Cátedra de Animales de Laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina. Tel: +54-221-4211276  
**E-mail:** gmprincipi@fcv.unlp.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

En los trabajos de investigación en los que se utilizan como modelo animal ratones inmunodeficientes, se menciona la necesidad de contar con una infraestructura adecuada, estandarizada y bajo ciertas normas que permita garantizar el mantenimiento correcto de estas cepas, libres de sus patógenos específicos (specific pathogen free SPF), con el fin de obtener resultados confiables y reproducibles (3, 4).

En la última década el desarrollo y uso de equipamientos con tecnología destinada a controlar el macro y microambiente, ha permitido mantener pequeños grupos de animales en instalaciones en las que no se cuenta con barreras sanitarias absolutas (1, 2, 3, 4). Uno de estos equipamientos lo constituye el aislador flexible (AF); formado por un receptáculo de PVC cerrado, a modo de burbuja, en el cual pueden mantenerse las cajas de los animales, aislados del ambiente exterior a través de la filtración absoluta del aire (5). Otra opción, son las estanterías ventiladas también llamados rack ventilados integrado por cajas con ventilación individual (ECIV), que a través de la filtración del aire del macroambiente, independiza a cada una de ellas creando un microambiente estéril. Ambos equipos no sólo sirven para alojar animales de experimentación inmunodeficientes sino también para mantener animales genéticamente modificados, libres de gérmenes o inoculados con microorganismos patógenos (11, 12, 13). En todos los casos el aislamiento, las condiciones de esterilidad, el control del ambiente y la capacitación del personal son requisitos fundamentales para el desarrollo de investigaciones en las que se emplean alguno de estos equipos (6, 8). En nuestro país no se cuenta con estudios en los que se comparen ambos sistemas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar comparativamente las ventajas y desventajas de cada uno de estos equipamientos para el alojamiento de cepas de ratones inmunodeficientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Animales:** Se utilizaron ratones de la cepa CBA/N-*xid*, SPF, provenientes del CEMIB, Universidad Estatal de Campinas, Brasil. Estos animales se caracterizan por poseer un sistema inmunológico en el cual las células B muestran defectos en su maduración y se encuentran en baja proporción en la sangre periférica. Esta condición hace que sirvan como modelo para realizar estudios sobre inmunología e inflamación (1). Para su mantenimiento es necesario proporcionarles alimento y agua de bebida estéril, temperatura ambiente en un rango entre 23 +/- 1 °C, humedad relativa entre el 40 y el 60 %, una ventilación entre 10 y 15 recambios de aire por hora y un fotoperiodo uniforme luz/oscuridad de

14/ 10 horas (6, 7, 8).

Se emplearon dos grupos de ratones reproductores, de 12 animales cada uno, 6 machos y 6 hembras de 8 semanas de edad que se mantuvieron en el aislador y en el rack ventilado respectivamente.

Todos se aparearon en forma monogámica utilizando un sistema de manejo para endocria. A lo largo del año en cada uno de los equipos se alojaron entre 8 y 10 cajas.

**Aislador Flexible (AF):** tiene un volumen interior de 0,54 m<sup>3</sup>, en el cual se pueden alojar entre 8 y 10 cajas de ratones de 13 x 13 x 30 cm, cuenta con cinco componentes principales: a) un cuerpo de PVC flexible transparente de 0,4 µm de espesor, dentro del cual se alojan los animales; b) un túnel de acceso de PVC rígido con dos tapas de cierre que se utilizan para ingresar los insumos, los animales y descontaminar los materiales. c) Un par de guantes de goma de mangas largas a través de los cuales se manejan los animales desde el exterior; d) dos motores eléctricos de 1/10 HP, 220 V que proveen ventilación y presurización positiva a la unidad, cuyo consumo es de 1061 watts por hora; conectados a los filtros y e) dos portafiltros cilíndricos de acero inoxidable con filtros absolutos (HEPA) a través de los cuales ingresa y egresa el aire (2).

Esta unidad se monta sobre una base metálica de 2 m de largo por 1,5 metros de ancho a 80 cm del piso. Como anexos se necesitan: un compresor con mangueras, una pistola para pulverización con desinfectantes, una manga de transferencia de insumos y un cilindro de acero inoxidable destinado a la esterilización de insumos en autoclave.

**Estantería ventilada (ECIV):** este equipo está compuesto por un armazón de 2,10 m de largo x 2,00 m de alto x 0,65 m de ancho, tiene una capacidad para alojar 72 cajas de 30 x 16 x 14 cm c/u ó 36 cajas de 30 x 30 x 14 cm c/u. Cada caja se comporta como un microaislador, tiene una tapa con filtro y se conecta a través de un conducto al sistema de ventilación con filtración absoluta, equipado con filtros absolutos HEPA (filtración del 99,9 % de partículas), tanto en la entrada como en la salida del aire (9, 10, 11). La presión puede modificarse permitiendo trabajar en condiciones de bioseguridad (12, 13). La estantería cuenta con un panel de control que permite registrar la temperatura, la humedad, los recambios de aire, y el estado de los filtros. El motor tiene un consumo menor de 25 watts por hora. Este equipo permite alojar diferentes tamaños de cajas y utilizarlo parcialmente en cuanto a su capacidad sin alterar la filtración en cada una de ellas.

## G. Principi y col.

**Estudio comparativo:** Para realizar el presente estudio se evaluaron en ambos equipos los parámetros que se consideraron más relevantes: montaje y puesta en marcha; desinfección y limpieza; procedimientos de manejo; controles microbiológicos; capacidad y espacio requerido, y consumo energético y durabilidad.

En la tabla 1 se comparan los procedimientos comunes en ambos sistemas: el montaje y puesta en marcha, la necesidad de accesorios, la desinfección y limpieza, los controles microbiológicos y los procedimientos de manejo, consumo energético, durabilidad y superficie que ocupa.

PARAMETROS	PROCEDIMIENTO EN AISLADOR FLEXIBLE (AF)	PROCEDIMIENTO EN ESTANTERIA VENTILADA (Rack -ECIV)
Montaje y puesta en marcha, pasos:	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Armado de base metálica a una altura de 80 cm.</li> <li>2) Colocación de motores de insuflación sincronizados para que funcionen alternadamente.</li> <li>3) Armado de 2 filtros de acero inoxidable con malla filtrante.</li> <li>3) Esterilización de los filtros.</li> <li>4) Conexión de tuberías de PVC entre motores, filtro de ingreso, cuerpo de aislador, filtro de salida y exterior.</li> <li>5) Sellado de las conexiones.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Instalación de filtros</li> <li>2) Conexión al panel de control.</li> </ol>
Accesorios necesarios para el funcionamiento	<p><b>Desinfectantes:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Acido peracético: Se lo utiliza por su fuerte acción biocida, se prepara al 2% en agua destilada, se usa y se descarta el sobrante de cada uso como residuo líquido peligroso. Hay que tener precaución en el manejo y emplear máscara para su fumigación. Se utiliza tanto para desinfectar el equipo antes de la puesta en marcha como para esterilizar el túnel de acceso para ingreso de materiales al aislador.</li> <li>-Alcohol 70 %: se coloca un rociador dentro del aislador para hacer la limpieza interna de paredes, también se utiliza para la limpieza externa.</li> </ul> <p><b>Otros accesorios:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Máscara filtrante para fumigación.</li> <li>-Cilindro porta insumos estériles: para esterilizar insumos de 90 litros de capacidad.</li> <li>-Film de polietileno autoclavable para sellar el cilindro porta insumos.</li> <li>-Manga de transferencia: para conectar el cilindro al túnel de acceso al aislador.</li> <li>-Compresor y pistola de fumigación para pulverizar acido peracético.</li> <li>-Cinta adhesiva de 5 cm de ancho para sellado hermético de túnel y manga de transferencia</li> </ul>	<p>Desinfectantes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Niesser (amonio cuaternario) al 4% en agua destilada: para desinfección de pinzas, mesadas y superficie externa de la estantería</li> <li>-Alcohol 70 %: para desinfección de mesadas, paredes y superficie externa de la estantería.</li> </ul> <p>Otros accesorios:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Bolsas autoclavables para cajas, alimento y agua de bebida.</li> <li>-Flujo laminar para cambio de cajas.</li> <li>-Guantes descartables para trabajar bajo flujo laminar.</li> <li>-Pinza de manejo de animales para cambio de cajas.</li> </ul>
Pasos para la desinfección y limpieza	<ol style="list-style-type: none"> <li>1- Preparación de acido peracético y pistola de fumigación.</li> <li>2- Fumigar todo el interior del aislador vacío con ácido peracético</li> <li>3- Sellar túnel.</li> <li>4 -Dejar actuar durante 24 horas.</li> <li>5- Ruptura del sellado del ingreso y egreso de aire, encender motores y ventilar durante 24 horas.</li> <li>6- Control microbiológico.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1- Limpieza exterior con alcohol 70% o amonio cuaternario 4%.</li> <li>2- Dejar actuar 1 hora.</li> <li>3-Encender equipo.</li> <li>4- Control microbiológico</li> </ol>
Control microbiológico	<ol style="list-style-type: none"> <li>1-Abrir el túnel de acceso.</li> <li>2-Colocar las placas de monitoreo.</li> <li>3-Cerrar el túnel.</li> <li>4-Fumigar con ácido peracético.</li> <li>5-Dejar actuar 30 minutos.</li> <li>6-Ingresa placa al aislador.</li> <li>7-Abrir las placas y dejar actuar 30 minutos.</li> <li>8-Retirar placas hacia el túnel.</li> <li>9 Abrir puerta externa del túnel.</li> <li>10-Sacar las placas y enviar al laboratorio.</li> <li>11-Cerrar el túnel de acceso.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1-Encender el flujo laminar.</li> <li>2-Tomar una caja del rack.</li> <li>3- Colocar las placas.</li> <li>4-Volver la caja al rack dejar actuar media hora.</li> <li>6-Volver la caja al flujo laminar.</li> <li>7-Retirar placa y enviar al laboratorio.</li> <li>8-Volver la caja al rack.</li> </ol>

<p>Procedimientos de manejo</p>	<p><b>Ingreso de animales libres de patógenos específicos</b> Estos llegan en microaisladores o cajas de transporte.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Cada caja de transporte se fumiga externamente con alcohol bajo un flujo laminar.</li> <li>2. Se prepara dentro de una doble bolsa una caja de ratón estéril para recibir los animales.</li> <li>3. Bajo el flujo laminar se abren la caja de transporte con los animales y la doble bolsa con la caja estéril.</li> <li>4. Se pasan con pinzas los animales de la caja de transporte a la caja estéril.</li> <li>5. Se cierra la doble bolsa con la caja con los animales.</li> <li>6. Se abre el túnel de acceso y se coloca la doble bolsa con la caja con los animales.</li> <li>7. Se cierra el túnel de acceso.</li> <li>8. Se fumiga con ácido peracético.</li> <li>9. Se deja actuar 20 minutos.</li> <li>10. Se abre la puerta interna del túnel de acceso para introducir la doble bolsa al aislador.</li> <li>11. Se cierra la puerta interna del túnel.</li> <li>12. Dentro del aislador se abre la doble bolsa y se ubica la caja dentro del mismo.</li> </ol> <p>• <b>Preparación y esterilización de insumos:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- El alimento y la viruta se colocan en bolsas de tela de 20 x 35 cm.</li> <li>2- Se introducen en el cilindro porta insumos.</li> <li>3- Este se sella con film de polietileno autoclavable y cinta de papel a modo de tapa.</li> <li>4- Se autoclava el cilindro.</li> <li>5- Se abre de la puerta externa del túnel de acceso al aislador.</li> <li>6- Se ingresa el agua en botellas estériles en el túnel.</li> <li>7- Se conecta la manga de transferencia al túnel del aislador.</li> <li>8- Se conecta el cilindro porta insumos a la manga de transferencia y se sella con cinta.</li> <li>9- Se prepara ácido peracético y se fumiga con la pistola.</li> <li>10- Se deja actuar un mínimo de 2 horas.</li> <li>11- Se rompe el film de polietileno del cilindro para descargar los insumos dentro del túnel del aislador.</li> <li>12- Se ingresa el agua, la viruta y el alimento al aislador.</li> <li>13- Se desacopla la manga de transferencia del túnel del aislador.</li> <li>14- Se cierra el túnel de ingreso.</li> </ol> <p>• <b>Cambio de cajas:</b> (Se realiza dentro del aislador a través de las mangas con guantes).</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Los animales se sacan de la caja.</li> <li>2- Se saca la viruta sucia y se coloca en una bolsa.</li> <li>3- Luego se rellena cada caja con viruta limpia.</li> <li>4- Se suministra agua y alimento.</li> <li>5- Se colocan nuevamente los animales en la caja.</li> <li>6- Colocar bolsas con viruta sucia, botellas vacías y bolsas de alimento vacías en el túnel del aislador.</li> <li>7- Se abre la puerta externa del túnel.</li> <li>8- Se retiran las bolsas con viruta sucia, botellas y bolsas de alimento vacías.</li> <li>9- Se cierra el túnel del aislador.</li> </ol>	<p><b>Ingreso de animales libres de patógenos específicos:</b> Estos llegan en microaisladores o cajas de transporte.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Se llevan a un flujo laminar donde se trabaja con guantes.</li> <li>2. Se pulveriza con alcohol por fuera la caja de transporte con los animales.</li> <li>3. Se toma una caja estéril.</li> <li>4. Se abre la caja de transporte con los animales.</li> <li>5. Los animales se transfieren de la caja de transporte a una definitiva con pinzas.</li> <li>6. Se coloca la caja en la estantería ventilada.</li> </ol> <p>• <b>Preparación y esterilización de insumos:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 La viruta se coloca en cajas limpias de recambio, el alimento en bolsa de tela y el agua en botellones.</li> <li>2 Cada insumo se autoclava en el ciclo de esterilización correspondiente.</li> <li>3 Luego, se los coloca en doble bolsa autoclavable.</li> <li>4 Se sella cada bolsa con atadura de hilo.</li> <li>5 Se esteriliza.</li> <li>6 Se almacena en la sala de la estantería ventilada.</li> </ol> <p>• <b>Cambio de cajas:</b> (Se realiza bajo un flujo laminar clase I. con guantes )</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 Encendido y desinfección de flujo laminar.</li> <li>2 Cada caja del rack se lleva al flujo laminar.</li> <li>3 Se abre la bolsa con cajas limpias.</li> <li>4 Los animales se cambian de caja.</li> <li>5 Se llena con agua y alimento la tolva.</li> <li>6 Llevar la caja nuevamente al rack.</li> <li>7 Al finalizar se envían las cajas sucias para lavado, relleno y autoclavado.</li> </ol>
---------------------------------	---	---

**G. Principi y col.**

Controles Microbiológicos periódicos	<p>Ambiente:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Apertura de la puerta externa del túnel de acceso</li> <li>2- Se colocan en bolsas, las placas e hisopos estériles en el túnel de ingreso.</li> <li>3- Se tapa y sella el túnel.</li> <li>4- Se fumiga con ácido peracético y se deja actuar 30 min.</li> <li>5- Luego se ingresan las placas al aislador.</li> <li>6- Se abren las placas durante 30 minutos.</li> <li>7- Luego se retiran las placas a través del túnel.</li> <li>8- Se cierra la puerta externa del túnel de acceso.</li> </ol> <p>Animales: cada 3 meses se envían al laboratorio una muestra representativa del aislador.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Se toma una caja con los animales seleccionados y se la envuelve en una bolsa PVC.</li> <li>2- Se abre la puerta interna del túnel de acceso, se introduce la caja envuelta y se cierra.</li> <li>3- Se abre la puerta externa y se retira la caja.</li> <li>4- Se cierra la puerta externa.</li> <li>5- Se envían animales al laboratorio para su control.</li> </ol> <p><b>Sistema de Centinelas:</b> se coloca una caja dentro del aislador con animales centinelas (inmunodeficientes). Luego de 2 meses estos ratones se enviarán al laboratorio para control, en reemplazo de la población del aislador.</p>	<p>Ambiente:</p> <p>En este caso, como cada caja es una unidad individual, lo que se controla es la eficiencia de filtración de aire con una caja vacía, de la misma manera que en el armado del equipo.</p> <p>Animales: cada 3 meses se envían al laboratorio una muestra representativa de la estantería ventilada.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Se llevan las cajas de animales seleccionadas al flujo laminar.</li> <li>2- Se pasan a una caja limpia estéril con tapa filtro.</li> <li>3- Se envían al laboratorio para su control.</li> </ol> <p><b>Sistema de Centinelas:</b> se coloca una caja en el rack con animales centinelas (animales inmunodeficientes).</p> <p>Estos ratones se enviarán para control al laboratorio en reemplazo de la población del rack.</p>
Consumo de energía	Entre 1061 y 2000 watts	Menos de 25 watts
Limpieza	Debe realizarse periódicamente limpieza externa e interna de la unidad flexible de PVC con alcohol 70%.	Requiere solo limpieza exterior con alcohol o amonio cuaternario.
Área que ocupa	2,00 m de largo x 1,5 m de ancho por 1,3 m de altura 3,9 m <sup>3</sup>	2,10 m de largo x 2,00 m de alto x 0,65 m de ancho 2,73 m <sup>3</sup>
Duración	< de 2 años	Larga vida útil

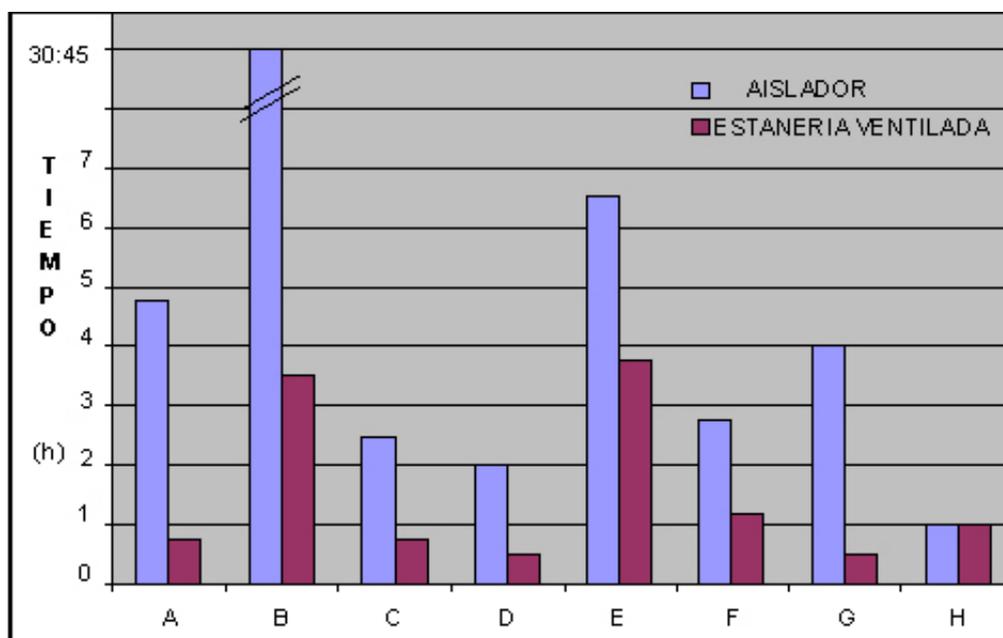


Fig. 1. Ref: A: Montaje y puesta en marcha, B: Desinfección y limpieza, C: Control microbiológico, D: Procedimientos de manejo, E: Preparación y esterilización de insumos, F: Cambio de cajas, G: Controles periódicos, H: Limpieza.

	<b>AISLADOR FLEXIBLE (AF)</b>	<b>Tiempo</b>	<b>ESTANTERIA VENTILADA (RACK - ECIV)</b>	<b>Tiempo</b>
Montaje y puesta en marcha, pasos:	Armado de base. Colocación de motores. Armado de 2 filtros de acero inoxidable con malla filtrante. Esterilización de los filtros ciclo de autoclavado 1:30 hs. Conexión de tuberías de PVC. Sellado con cintas.	1 hora 1 hora 30 min  1:30 hs 30 min  15 min	1) Ensamble de filtros 2) Conexión al panel de control.	30 min 15 min
	TOTAL:	4 horas 45 minutos	TOTAL:	45 minutos
Desinfección y limpieza, pasos:	Preparación de ácido peracético y pistola de fumigación. Fumigación de todo el interior del aislador. Sellado del túnel de acceso. Dejar actuar durante 6 horas. Ruptura de tapones, arrancar motores y ventilar durante 24 horas.	15 min  15 min  15 min 6 horas 24 horas	Limpieza exterior con alcohol o amonio cuaternario. Dejar actuar. Encender.	30 min  3 horas
	TOTAL	30 horas 45 min		3 horas 30 min
Control microbiológico de ambiente pasos:	Abrir el túnel de acceso. Colocar las placas de cultivo Cerrar el túnel. Fumigar y dejar actuar 1 hora. Ingresar las placas al cuerpo del aislador. Abrirlas durante 30 minutos. Retirar las placas hacia el túnel. Abrir puerta externa del túnel Sacar las placas y enviarlas al laboratorio. Cerrar el túnel de acceso y fumigar.	15 min  15 min 1 hora  (6 y 7) 30 min  (8 y 9) 15 min  (10 y 11) 15 min	Encender flujo laminar. Tomar una caja vacía del rack. Colocar dentro las placas de cultivo abiertas. Ubicar la caja en el rack. Dejar actuar media hora. Cerrar las placas de cultivo. Enviarlas al laboratorio.	(1,2y3) 15 min 30 min
	TOTAL	2 horas 30 min	TOTAL	45 min
Procedimientos de manejo:	<b>Ingreso de animales libres de patógenos específicos</b> 1 Llevar las cajas de transporte con animales al flujo laminar. 2 Fumigar con alcohol 70% 3 Tomar una caja estéril envuelta en doble bolsa. 4 Abrir la caja con los animales y la doble bolsa de la caja estéril. 5 Pasar los animales de una a otra caja. 6 Cerrar la doble bolsa con la caja con los animales. 7 Abrir el túnel de acceso. 8 Colocar la caja con los animales con la doble bolsa. 9 Cerrar el túnel. 10 Preparar ácido peracético, fumigar y dejar actuar 20 minutos. 11 Abrir la puerta interna del túnel del aislador e introducir la caja con los animales en la doble bolsa 12 Cerrar la puerta interna del túnel. 13 Abrir la doble bolsa y colocar la caja con los animales en el aislador.	(1,2y3) 15 min  15 min  (5 y 6) 15 min  15 min 15 min  30 min  (11 a 13) 15 min	<b>Ingreso de animales libres de patógenos específicos:</b> 1. Llevar la caja de transporte con los animales al flujo laminar. 2. Fumigar con alcohol por fuera la caja de transporte con los animales. 3. Tomar una caja estéril de la estantería ventilada. 4. Abrir la caja con los animales. 5. Pasar los animales a la caja del rack. 6. Colocarlos en el rack ventilado.	(1,2 y3) 15 min          (4,5 y 6) 15 min

G. Principi y col.

	<p><b>Preparación y esterilización de insumos:</b></p> <p>1 Preparar el alimento y la viruta en bolsas.            2 Colocarlas en el cilindro.            3 Sellar el mismo con polipropileno autoclavable y cinta de papel a modo de tapa.            4 Autoclavarlo a 121°C en ciclo de 1 hora y 30 min.            5 Abrir la puerta externa del túnel de acceso.            6 Colocar las botellas con agua previamente esterilizadas en el túnel de acceso del aislador.            7 Conectar la manga de transferencia al túnel.            8 Conectar el cilindro porta insumos a la manga de transferencia.            9 Sellar con cinta.            10 Preparar ácido peracético y pulverizar con pistola y dejar actuar 2 horas.            11 Desde la manga de transferencia romper la tapa de polipropileno del cilindro y descargar los insumos en el túnel de acceso.            12 Ingresar los insumos al aislador para almacenarlos dentro del mismo.            13 Desacoplar la manga de transferencia del túnel del aislador.            14 Cerrar el túnel de ingreso.</p>	<p>15 min (2 y 3) 30 min  1h 30 min  15 min  (7, 8 y 9) 1 hora 15 min  2 horas  (11y 12) 15 min  15 min  15 min</p>	<p><b>Preparación y esterilización de insumos:</b></p> <p>1 Colocar la viruta en cajas limpias de recambio, el alimento en bolsas de tela y el agua en botellones.            2 Se autoclavan cada insumo en su correspondiente ciclo de esterilización: la viruta (1:30 horas), el alimento (1 hora) y el agua (45 minutos).            3 A todos los insumos se los coloca en doble bolsa autoclavable.            4 Se sellan con atadura de hilo.            5 Se almacenan en la sala de la estantería ventilada.</p>	<p><b>30 min</b>  30 min  (2,3,4,5) 3 horas 15</p>
	<b>TOTAL</b>	<b>6 horas 30 min</b>	<b>TOTAL</b>	<b>3 horas 45 min</b>
	<p><b>Cambio de cajas:</b></p> <p>1 Tomar de a una las cajas a cambiar y pasar los animales a un recipiente vacío.            2 Raspar la viruta sucia de la caja y eliminarla en una bolsa.            3 Rellenar una por una las cajas con viruta limpia.            4 Rellenar las mamaderas con agua estéril del botellón y reponer comida.            5 Colocar nuevamente los animales en la caja.            6 Colocar las bolsas con viruta sucia, botellón vacío y bolsas de alimento vacías en el túnel del aislador.            7 Abrir la puerta externa del túnel.            8 Retirar los elementos sucios.            9 Cerrar el túnel del aislador.</p>	<p>(1, 2, 3, 4 y 5) 15 min x caja x 8 cajas= 2 horas  15 min  15 min  15 min</p>	<p><b>Cambio de cajas:</b></p> <p>1 Encender y desinfectar el flujo laminar.            2 Llevar al flujo los insumos limpios necesarios (cajas limpias preparadas en bolsas, maderas estériles, alimento estéril y encender luz UV 10 minutos y apagar).            3 Tomar la caja del rack con animales y llevarla al flujo.            4 Abrir la bolsa con las cajas limpias.            5 Cambiar los animales de caja.            6 Colocarles agua y comida.            7 Llevar esta caja nuevamente al rack.            8 Al finalizar se envían todos los insumos sucios para su lavado y esterilización.</p>	<p>(1, 2) 15 min  (3,4,5) 5 minutos por caja x8 cajas: 40 min  (7,8) 15 min</p>
	<b>TOTAL</b>	<b>2 horas 45 min</b>	<b>TOTAL</b>	<b>1 hora 10 min</b>
Controles microbiológicos PERIODICOS	<p><b>De ambiente cada 3 meses:</b></p> <p>1 Abrir el túnel de acceso.            2 Colocar las placas y los hisopos estériles.            3 Tapar y sellar el túnel.            4 Preparar y fumigar con ácido peracético dejando actuar 2 h.            5 Ingresar las placas de cultivo al aislador.            6 Abrirlas y dejarlas durante 30 min.            7 Cerrar las placas y retirarlas hacia el túnel.            8 Sacar las placas del aislador.            9 Cerrar el túnel de acceso.</p>	<p>(1 y 2) 15 min  15 min 2 horas 15 min  30 min  15 min</p>	<p><b>De ambiente:</b></p> <p>En este caso como cada caja es una unidad individual, lo que se controla es la eficiencia de filtración de aire con una caja vacía de la misma manera que en el armado del equipo.            El panel de control registra los parámetros y funcionamiento de estos filtros por lo que no sería necesario realizarlo de rutina.</p>	
	<b>TOTAL</b>	<b>3 horas 30 min</b>		
Limpieza	Debe realizarse periódicamente limpieza externa e interna de la unidad flexible de PVC con alcohol 70 %.	1 hora	Requiere solo limpieza exterior con alcohol 70 % o amonio cuaternario.	1 hora

En las figuras siguientes se observan fotográficamente los equipos empleados: Fig. 2 túnel de acceso, en la Fig.3 el aislador flexible, en la Fig.4 el cilindro porta insumos y en la Fig.5 el ECIV - rack ventilado.

## RESULTADOS

El costo del equipo es mucho mayor en el caso de las estanterías ventiladas (ECIV), son más modernas que los aisladores flexibles (AF) y tienen la ventaja de poder alojar un mayor número de animales, requiriendo un espacio menor y consumiendo menos energía.

El montaje y el tiempo empleado para la puesta en marcha del AF fue de 6:30 horas mientras que para la ECIV fue de 3:30 horas. Los procedimientos de trabajo que se deben cumplir, la cantidad de insumos y la necesidad de contar con equipos anexos para trabajar en los AF son más numerosos y complejos comparados con los del ECIV.

Los procesos de desinfección y controles microbiológicos que se realizaron en los AF fueron de mayor complejidad que en el caso de las ECIV.

El personal técnico que trabajó con AF necesitó mayor capacitación que el que manejó las ECIV.

Los resultados obtenidos en esta evaluación demuestran que ambos sistemas son eficientes y adecuados para el mantenimiento de cepas de ratones inmunodeficientes durante largos periodos de tiempo, sin embargo, se determinó que el sistema de ECIV es más sencillo y demanda menos tiempo para su instalación y armado por lo cual se concluye que estos son más ventajosos a pesar de que su costo es más elevado.

Los resultados y la información obtenida en esta evaluación contribuirán indudablemente con la toma de decisiones cuando se deben mantener cepas de ratones inmunodeficientes en bioterios de producción o de experimentación.

## BIBLIOGRAFÍA

1. El ratón CBA/N xid como modelo animal de inmunodeficiencia Producción y manejo Fabricio Maschi, Pilar Cagliada, Cecilia Carbone. Catedra de animales de Laboratorio y Bioterio. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata Calles 60 y 118 s/n (1900) La Plata Revista Química Viva. Número 1, año 9, abril de 2010. ISSN 1666-7948.
2. F Maschi, G Principi, S Milocco, JM Laborde, M Carriquiriborde, M Ayala, P Cagliada, Carbone C. Evaluación de un sistema de aisladores flexibles para el mantenimiento de ratones inmunodeficientes. *Analecta Vet* 2007. 27 (1): 30- 35.
3. CCAC [Canadian Council on Animal Care]. Guide to the Care and Use of Experimental Animals. 2nd ed. Ottawa Canada: CCAC. 1993.



Fig. 2. Túnel de acceso.



Fig.4 Cilindro porta insumos.



Fig. 3. Aislador flexible.



Fig. 5. ECIV - rack ventilado.

## **G. Principi y col.**

4. Clark Derrel J. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 1996; p. 22-48.
5. Clough G. UFAW Handbook. The animal House: design, equipment and environmental control. UFAW. 1991; p. 108 - 143.
6. Coates ME, Gustafsson BE. Germ Free Animals in Biomedical Research. 1984; p. 11-48.
7. Ferrer Bazaga S, Martinez Escandell A. SECAL-Animales de Laboratorio: Prevención de riesgos en la exposición a agentes biológicos. 2003; p. 19-23.
8. Michael F. Festing W. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. Churchill Livingstone. 1976; p. 57-73.
9. Lawson T. LAT Manual de entrenamiento. American Association for Laboratory Animals Science. 2000.
10. Eaton P. UFAW Handbook. Higiene in the animal House. UFAW. 1991; p. 144-157.
11. Bennett M, Parks SR, Dennis MJ. Containment testing of negative pressure isolators used to house laboratory animals infected with BL3 agents. FELASA: Internationalisation and harmonization of laboratory animal care and use issues. 2004; p. 137-144.
12. Lipman NS, Corning BF, Saifuddin M. Evaluation of isolator caging systems for protection of mice against challenge with mouse hepatitis virus. Laboratory Animals. 1993; p. 134-140.
13. Perkins Scott E, Lipman NS. Characterization and Quantification of Microenvironmental Contaminants in Isolator Cages with a Variety of Contact Beddings. Contemporary Topics. 1995. 34 (5): 93-97.