



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“ESTANDARIZACIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA  
HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS EN RATONES (*Mus  
musculus*) CEPA BALB/c DEL BIOTERIO DE LA ESCUELA  
SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTOR:** STEPHANIE ALEXANDRA CASTRO LÓPEZ

**DIRECTORA:** Dra. SANDRA NOEMI ESCOBAR ARRIETA. M.Sc.

Riobamba - Ecuador

2021

© 2021, **Stephanie Alexandra Castro López**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Stephanie Alexandra Castro López, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 15 de septiembre de 2021



**Stephanie Alexandra Castro López**

**180474866-1**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación; Tipo: Proyecto de Investigación "ESTANDARIZACIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS EN RATONES (*Mus musculus*) CEPA BALB/c DEL BIOTERIO DE LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO" realizado por la señorita: **STEPHANIE ALEXANDRA CASTRO LÓPEZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

|   | <b>FIRMA</b>  | <b>FECHA</b> |
|---|---|--------------|
| Dr. Fabián Ernesto Arias Arias. PhD.<br><b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>                | <br><small>Firmado electrónicamente por</small><br><b>FABIAN ERNESTO</b>                  | 15-09-2021   |
| Dra. Sandra Noemi Escobar Arrieta. M.Sc.<br><b>DIRECTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN</b> | <br><small>Firmado electrónicamente por</small><br><b>SANDRA NOEMI ESCOBAR ARRIETA</b>   | 15-09-2021   |
| BQF. Gisela Alexandra Pico Bonilla. M.Sc.<br><b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>              | <br><small>Firmado electrónicamente por</small><br><b>GISELA ALEXANDRA PILCO BONILLA</b> | 15-09-2021   |

## **DEDICATORIA**

A mi familia porque de una u otra manera han sido parte de mi formación académica, en especial a mis padres y a mi hermano por ser los pilares fundamentales, por impulsarme cada día a lograr mis sueños, por toda su entrega, su confianza, su guía y su paciencia, por ser un ejemplo de esfuerzo y dedicación, a ellos que son el motor principal en mi vida, les dedico cada uno de mis logros, siendo este un escalón más en mi vida profesional.

Stephanie

## **AGRADECIMIENTO**

Primeramente, doy gracias a Dios ya que, si en El nada sería posible, por gozar de plena salud y la dicha de tener a mi familia junto a mí, gracias a mis padres por su incansable esfuerzo, por luchar cada día por sacarnos adelante, por su paciencia y a ti hermano gracias por tus consejos, por tu orientación, no cabe las palabras para expresar cuan agradecida estoy con ustedes querida familia por todo su apoyo y su amor.

Stephanie

## TABLA DE CONTENIDO

|                        |      |
|------------------------|------|
| ÍNDICE DE TABLAS.....  | viii |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | ix   |
| ÍNDICE DE ANEXOS.....  | x    |
| RESUMEN.....           | xi   |
| SUMMARY .....          | xii  |
| INTRODUCCIÓN .....     | 1    |

### CAPÍTULO I

|   |          |
|---|----------|
| <b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....</b>                       | <b>3</b> |
| 1.1. Antecedentes .....   | 3        |
| 1.2. Experimentación animal.....                                | 4        |
| 1.3. Animales de experimentación .....                          | 5        |
| 1.4. Ratón <i>Mus musculus</i> .....                            | 6        |
| 1.5. Características generales .....                            | 6        |
| 1.6. Conducta usual del ratón.....                              | 7        |
| 1.7. Reproducción .....   | 7        |
| 1.8. Ambiente del ratón.....                                    | 8        |
| 1.8.1. <i>Microambiente</i> .....                               | 9        |
| 1.8.1.1. <i>Caja o jaula (recomendaciones de espacio)</i> ..... | 9        |
| 1.8.1.2. <i>Lecho</i> .....                                     | 10       |
| 1.8.1.3. <i>Agua</i> .....                                      | 10       |
| 1.8.1.4. <i>Alimento</i> .....                                  | 11       |
| 1.8.2. Macroambiente.....                                       | 11       |
| 1.8.2.1. <i>Temperatura y humedad relativa</i> .....            | 12       |
| 1.8.2.2. <i>Ventilación</i> .....                               | 12       |
| 1.8.2.3. <i>Iluminación</i> .....                               | 13       |
| 1.8.2.4. <i>Ruido</i> .....                                     | 14       |
| 1.8.2.5. <i>Olor</i> .....                                      | 14       |
| 1.9. Estandarización de los animales de experimentación .....   | 15       |
| 1.10. Extracción de sangre .....                                | 15       |
| 1.10.1. Pruebas bioquímicas (Química sanguínea).....            | 16       |

|           |                                      |    |
|-----------|--------------------------------------|----|
| 1.10.2.1. | <i>Serie roja</i> .....              | 17 |
| 1.10.2.2. | <i>Serie Blanca</i> .....            | 17 |
| 1.11.     | Punción cardiaca.....                | 18 |
| 1.12.     | Volumen de extracción de sangre..... | 19 |

## CAPÍTULO II

|          |  |    |
|----------|--|----|
| 2.       | <b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....                | 20 |
| 2.1.     | Lugar de Investigación.....                    | 20 |
| 2.2.     | Tipo y diseño de la investigación.....         | 20 |
| 2.3.     | Población de estudio.....                      | 20 |
| 2.4.     | Selección y tamaño de la muestra.....          | 20 |
| 2.5.     | Análisis Estadístico.....                      | 21 |
| 2.6.     | Técnicas de recolección.....                   | 21 |
| 2.7.     | Materiales, Equipos y Reactivos.....           | 21 |
| 2.7.1.   | Materiales.....                                | 21 |
| 2.7.2.   | Equipos.....                                   | 21 |
| 2.7.3.   | Reactivos.....                                 | 22 |
| 2.8.     | Metodología.....                               | 22 |
| 2.8.1.   | Inoculación intraperitoneal de anestesia.....  | 22 |
| 2.8.2.   | Extracción de sangre por punción cardiaca..... | 23 |
| 2.8.3.   | Pruebas hematológicas.....                     | 23 |
| 2.8.3.1. | <i>Frotis sanguíneo</i> .....                  | 24 |
| 2.8.4.   | Pruebas Bioquímicas.....                       | 24 |

## CAPÍTULO III

|      |   |    |
|------|---|----|
| 3.   | <b>MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS</b> .....        | 26 |
| 3.1. | Resultados de los parámetros hematológicos y bioquímicos..... | 26 |

|                           |    |
|---------------------------|----|
| <b>CONCLUSIONES</b> ..... | 31 |
|---------------------------|----|

|                              |    |
|------------------------------|----|
| <b>RECOMENDACIONES</b> ..... | 32 |
|------------------------------|----|

## GLOSARIO

## BIBLIOGRAFÍA

## ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

|                   |  |    |
|-------------------|--|----|
| <b>Tabla 1-1:</b> | Recomendaciones de alojamiento para ratones de laboratorio según FELASA .....  | 8  |
| <b>Tabla 2-1:</b> | Espacio mínimo recomendado para ratones alojados en grupos .....   | 9  |
| <b>Tabla 3-1:</b> | Parámetros Nutricionales.....  | 11 |
| <b>Tabla 4-1:</b> | Volumen de sangre circulante en Ratón adulto, sano y bien nutrido .....  | 19 |
| <b>Tabla 1-3:</b> | Indicadores hematológicos de referencia, media $\pm$ desviación estándar (Línea blanca), de Ratones <i>Mus musculus</i> machos y hembras del Bioterio de la ESPOCH ..... | 26 |
| <b>Tabla 2-3:</b> | Recuento diferencial de leucocitos .....   | 27 |
| <b>Tabla 3-3:</b> | Indicadores hematológicos de referencia, media $\pm$ desviación estándar, de Ratones <i>Mus musculus</i> machos y hembras del Bioterio de la ESPOCH.....                 | 29 |
| <b>Tabla 4-3:</b> | Indicadores hematológicos de referencia, media $\pm$ desviación estándar (Plaquetas), de Ratones <i>Mus musculus</i> machos y hembras del Bioterio de la ESPOCH. ....    | 30 |
| <b>Tabla 5-3:</b> | Indicadores Bioquímicos, media $\pm$ desviación estándar de Ratones <i>Mus musculus</i> machos y hembras del Bioterio de la ESPOCH.....                                  | 31 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1-1:</b> Ratón <i>Mus musculus</i> cepa BALB/c .....  | 7  |
| <b>Figura 2-1:</b> Ratones recién nacidos.....  | 8  |
| <b>Figura 3-1:</b> Extracción de sangre por punción cardiaca.....   | 19 |
| <b>Figura 4-1:</b> La aguja se inserta lateralmente y se dirige a través del diafragma hasta el ventrículo cardiaco ..... | 20 |

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A:** CONDICIONES DEL BIOTERIO, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOCH

**ANEXO B:** ANESTESIA Y EXTRACCIÓN DE MUESTRA

**ANEXO C:** ANÁLISIS HEMATOLÓGICO

**ANEXO D:** RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS

**ANEXO E:** QUÍMICA SANGUÍNEA

**ANEXO F:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO-MINITAB.18

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue estandarizar los parámetros hematológicos (primarios y secundarios) y bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, albúmina y proteínas totales) en ratones *Mus musculus* cepa BALB/c. Se analizaron cuarenta muestras de sangre divididos entre machos y hembras de pesos corporales comprendidos entre 25g a 30g, criados y reproducidos en el Bioterio de la ESPOCH a una temperatura de 22 grados Celsius, una humedad del 65%, con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas. En las determinaciones se utilizó métodos y técnicas para sangre humana, para el procesamiento del hemograma se empleó un equipo automatizado Abaxis VetScan HM5 de uso veterinario, además de realizar un frotis sanguíneo para el recuento diferencial de leucocitos con la tinción Wright y Panóptico; para el análisis de química sanguínea se utilizó por un lado el equipo semiautomatizado Rayto RT-1904C (proteínas totales y albúmina) y por otro el quipo automatizado Cobas c111 (glucosa, colesterol y triglicéridos). Para el análisis estadístico de datos se utilizó el software Minitab18. y se compararon los datos mediante el test paramétrico “t” de dos muestras dando como resultado diferencias entre ambos sexos en relación a los índices secundarios, plaquetas, glucosa, colesterol y triglicéridos, así como también pequeñas diferencias en relación a datos bibliográficos. Se concluye que las diferencias pueden darse debido a factores ambientales a los cuales se expuso cada estudio como el método de recolección, el quipo utilizado, la edad, temperatura, humedad, y al sexo del animal por lo que, a pesar de encontrarse dentro del rango normal, es necesario obtener valores personalizados para cada Bioterio, con sus propias condiciones ambientales y características intrínsecas.

**Palabras clave:** <HEMATOLÓGICOS>, <GLUCOSA>, <COLESTEROL>, <TRIGLICERIDOS >, <ALBÚMINA >, <PROTEINAS TOTALES>, <VALORES DE REFERENCIA >, <RATÓN (*Mus musculus*)>.



1965-DBRA-UTP-2021

## **ABSTRACT**

The objective of the present research was to standardize the hematological parameters (primary and secondary) and biochemicals (glucose, cholesterol, triglycerides, albumin, and total proteins) on *Mus musculus* strain BALB/c mice. Forty blood samples divided between males and females of body weights between 25g to 30g, bred and reproduced in the ESPOCH Bioterium at a temperature of 22 degrees Celsius, a humidity of 65%, with 12 hour light/dark cycles. In the determinations, methods and techniques were used for human blood, an automated Abaxis equipment was used to process the hemogram VetScan HM5 for veterinary use. In addition to taking a blood smear to count leukocyte differential with Wright and Panoptic stain; for blood chemistry analysis, on the one hand, the semi-automated equipment Rayto RT-1904C was used (total protein and albumin), and on the other, the Cobas c111 automated equipment (glucose, cholesterol, and triglycerides). For analysis and the Statistical data, the Minitab18 software was used. The data were compared using the parametric "t" test of two samples resulting in differences between both sexes in relation to secondary indexes, platelets, glucose, cholesterol, and triglycerides, as well as small differences in relation to bibliographic data. It is concluded that the differences can occur due to environmental factors to which each study was exposed as the method of collection, equipment used, age, temperature, humidity, and sex of the animal. That is why despite being within the normal range. It is necessary to obtain custom values for each Bioterium, with its own environmental conditions and intrinsic characteristics.

**Keywords:** <HEMATOLOGICAL>, <GLUCOSE>, <COLESTEROL>,<TRIGLYCERIDES>, <ALBUMIN>, <TOTAL PROTEINS>,<REFERENCE VALUES>, <MISE (*Mus musculus*)>.

## INTRODUCCIÓN

De todos los animales de laboratorio, los roedores son la especie mayormente utilizada representando alrededor del 70 al 85%, son criados específicamente con fines de investigación. Esta categoría cuenta con el orden más grande entre los mamíferos, aproximadamente 1800 especies.

En la investigación biomédica el ratón *Mus musculus* es la especie comúnmente utilizada con 400 cepas puras definidas genéticamente y muchas otras cepas transgénicas por ello son utilizadas ampliamente, las principales razones se debe a su pequeño tamaño, facilidad de manejo y alojamiento, su rápida reproducción, corta vida útil y la capacidad de observar varias generación en un periodo corto de tiempo (Delwatta et al, 2018, p. 251).

Su uso ha contribuido con el desarrollo de la ciencia, en estudios *in vivo* de compuestos con posible actividad farmacológica para el tratamiento de enfermedades. Es así que, en la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias, al ser una carrera enfocada en estudios farmacológicos, cuenta con un bioterio en el cual se utilizan ratas tipo Wistar y ratones tipo *BALB/c* para la enseñanza e investigación (Zutphen et al, 2001, p. 197).

Dado que el análisis sanguíneo es una parte fundamental en el diagnóstico y seguimiento procesos patológicos, son usados tanto en el ámbito clínico rutinario como en la investigación, por tanto es importante establecer valores referenciales de los índices hematológicos (primarios y secundarios) y bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, albúmina y proteínas totales) de los ratones tipo *BALB/c* usados en el bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia para que puedan servir de base en la evaluación de los cambios fisiológicos y funcionales de futuras investigaciones.

El estandarizar los valores de referencia de los diferentes parámetros químicos y bioquímicos en las condiciones dadas permite que dichos valores se puedan utilizar en una investigación cuando sea necesario confirmar si los valores obtenidos para el grupo de control están dentro del rango de referencia. Sin embargo, dicho conjunto de valores no está disponible actualmente para los ratones criados en condiciones locales en el bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por lo que su determinación y estandarización es fundamental.

Por lo tanto, el establecimiento de una base de datos de referencia para diferentes parámetros hematológicos y bioquímicos de ratones *Mus musculus* (cepa *BALB/c*) del Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo marcará un precedente para futuros investigadores.

## **OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **Objetivo General**

Estandarizar los valores de referencia hematológicos y bioquímicos en ratones (*Mus musculus*) BALB/c del bioterio de la Escuela Superior Politécnica Chimborazo.

### **Objetivos Específicos**

- Analizar la Química Sanguínea (glucosa, colesterol, triglicéridos, albúmina y proteínas totales), y la Biometría hemática (primarios y secundarios) en muestras sanguíneas obtenidas en ratones tipo BALB/c del bioterio de la Escuela Superior Politécnica Chimborazo.
- Diferenciar las posibles alteraciones tanto en la cuantificación como en la morfología celular en los resultados obtenidos.
- Comparar los valores hematológicos y bioquímicos existentes entre machos y hembras de ratones tipo BALB/c.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Antecedentes

Los avances científicos especialmente en el área de la salud son necesarios para dar respuesta a los retos de la sociedad del siglo XXI que permita resolver las principales problemáticas de salud que enfrentamos en la actualidad, para lo cual ha sido indispensable el uso de animales de experimentación como modelo de estudio biomédico por su aporte en la generación de nuevos conocimientos para el mejoramiento de la salud de los seres humanos y animales (López Vásquez, 2007, p 9).

El bioterio es el lugar en el cual se encuentran los animales de experimentación utilizados como modelos experimentales de enfermedades humanas desde hace muchos años en distintas áreas de la investigación, constituyendo uno de los pasos fundamentales en la biomedicina. Se requieren tanto para proyectos de investigación como en pruebas diagnósticas, terapéuticas y en controles de productos farmacológicos (Torrico, 2013, p.1).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) expresaba en su XI Reunión Interamericana de 1980: " Los países que han logrado un gran avance en el control de las enfermedades humanas y animales son aquellos que han establecido entidades que se dedican a mejorar el desarrollo de la Ciencia de los Animales de Laboratorio" (Rodríguez Yunta, 2007, p. 26).

Este avance, sin embargo, debe ir asociado al cumplimiento de normas éticas, siendo esencial la aplicación de las 3 R en experimentación animal (reemplazo, reducción y refinamiento) los cuales ayudan a minimizar la utilización de los animales de estudio (Mrad de Osorio, 2006, p. 172).

Desde 1991 en Europa se emplearon más de 10,000.000 de roedores, de los cuales el 67% fueron ratones y el 33% ratas. En Reino Unido, en el año de 1996 según datos estadísticos de 2,4 millones de animales experimentales utilizados, el 87% fueron roedores, de estos el 56% que equivale a 1.496.390 fueron ratones, seguido de las ratas con un 26% que equivale a 684.090 animales, mientras que los roedores menos utilizados fueron cobayos con un 4% que equivale 106.076, hámster con un 0,57% (9.898), gerbillos con un 0,3% (7.341) y con tan solo un 0,13% de "otros roedores" que equivale a un 3.546 (Torrico, 2013, p.3).

En la actualidad se estima que un 95% de los animales utilizados en investigaciones biomédicas son roedores, de los cuales el 90% son ratas y ratones, 2% hamsters, 2% cobayos y 1% otros, Dando como referencia encontramos estudios publicados por la Revista Brasileña de Patología y Medicina de Laboratorio en el año 2008 únicamente sobre los valores de referencia de parámetros bioquímicos en dos cepas de ratones BALB/c y C57BL/6, también encontramos uno publicado

por la Revista Brasileña de Investigaciones Veterinarias y Zootecnia en el año 2016 en la cepa BALB/c (Almeida et al. 2008).

También se encontró otro estudio sobre valores de referencia hematológicos en ratones hembras desnudos de la cepa BALB/c después de un xenoinjerto ovárico en el que se determina valores de referencia para un grupo control para comparar con los sometidos a estudio.

Por otra parte, en el Ecuador a pesar de que se trabaja con animales de experimentación, en búsqueda bibliográfica no se ha encontrado estudios previos que establezcan valores estandarizados para la Química Sanguínea (glucosa, colesterol, triglicéridos, albúmina y proteínas totales), y Biometría hemática (índices primarios y secundarios) en ratones *Mus musculus* cepa BALB/c.

No obstante existe un estudio nacional realizado en el año 2019 sobre la determinación de valores de referencia en hemograma y química sanguínea realizado únicamente en cuyes hembras (*Cavia porcellus*) en condiciones de altitud (2550 msnm) por la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca por la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la que el estrés y la altitud fueron factores determinantes que alteraron los resultados normales de algunos parámetros de la química sanguínea (glucosa, gamma glutamil transpeptidasa) y de la serie roja y blanca (Tapia, 2019, p. 16).

Por lo tanto, en la búsqueda de información, se observó que es muy escasa la referencia bibliográfica específica para este estudio, pero es muy amplia el empleo de ratones *Mus musculus* como modelo biológico, en estudios biomédicos y farmacéuticos, por lo que se toma como estudios de referencia aquellos que muestren resultados hematológicos y bioquímicos realizados en la cepa BLAB/C para poder comparar con los obtenidos en el bioterio de la ESPOCH.

## **1.2. Experimentación animal**

Es la práctica que tiene como finalidad ejecutar una intervención en el animal ya sea vivo o recientemente sacrificado con el propósito de obtener conocimiento científico sobre los fenómenos tanto fisiológicos como biológicos que suceden en una especie determinada mediante una respuesta biológica (Guimarães et al, 2016, p.218) (Romero-Fernandez et al, 2016, p.288).

Por lo tanto, una experimentación animal inicia cuando se prepara al biomodelo para su uso y culmina cuando se obtiene los resultados de la investigación, dicha experimentación debe ir acorde a las condiciones del método científico, para obtener resultados confiables y reproducibles en cualquier parte del mundo, en las mismas condiciones experimentales (Kolar, 2006, p. 113).

El uso de animales de experimentación se realiza básicamente en tres campos como es la docencia, la investigación y en la industria. En la docencia es común la práctica con animales de experimentación para conocer procesos fisiológicos, anatómico e incluso conseguir habilidades quirúrgicas a manera de entrenamiento.

En el ámbito de la investigación son utilizados como modelos de experimentación para descubrir nuevas drogas, evaluar enfermedades genéticas humanas, prevención de enfermedades, anomalías y diagnóstico de enfermedades, por otra parte en el ámbito de la industria sobresale el área de biotecnología con animales, en la cual se ha logrado obtener animales genéticamente modificados, así como probar si algunos productos son dañinos para el ser humano (Presidencia 2005) (Rodríguez Yunta, 2007, p. 26).

### **1.3. Animales de experimentación**

Se define como el ser vivo no humano ya sea vertebrado o invertebrado, usados en la investigación científica (Guimarães et al, 2016, p.218).

El empleo de animales de experimentación vivos hoy en día ha sido trascendental para una gran variedad de investigaciones científicas, académicas y económicas que han contribuido a un avance cada vez más acelerado, alcanzando el bienestar tanto del hombre como el de los propios animales, su uso ha permitido sanar enfermedades y ayudar a alargar la vida del hombre, como por ejemplo el desarrollo de vacunas, desarrollo de trasplantes de órganos, transfusiones de sangre, técnicas quirúrgicas, etc (Rodríguez Yunta, 2007, p.26).

Es imprescindible que el animal de laboratorio o reactivo biológico sea producido y concebido en condiciones óptimas, así como también su entorno debe encontrarse en condiciones controladas que brinden seguridad y fiabilidad en los resultados esperados para obtener un biomodelo animal de calidad, homogéneo con iguales características genéticas y somáticas como peso, edad, etc (Fernández et al, 2007, p.18) (Fuentes-Paredes et al., 2010, p.7).

Por otra parte, el animal de laboratorio debe ser considerado como un organismo vivo el cual siente y sufre, por tanto, es obligación de todos aquellos que cuidan, usan y producen animales para investigaciones o enseñanza asumir la responsabilidad de su bienestar, brindándoles un trato humanitario.

Es necesario aplicar el principio de las tres "Rs" antes de usar animales vivos, el cual consiste en reemplazar siempre y cuando sea factible ya sea por métodos de cultivo in vitro o modelos matemáticos, entre otros; el refinamiento el cual busca perfeccionar o crear nuevas técnicas con el fin de minimizar el sufrimiento así como reducir al mínimo el número de animales utilizados durante la experimentación (National Research Council, 2011, p.1).(Maldonado y Aquino, 2016, p.39).

Es necesario la existencia de comités éticos para evaluar y vigilar que los biomodelos sean tratados conformes a normas bioéticas nacionales o internacionales, las cuales aseguren el bienestar del animal, evitando daño innecesario del animal de experimentación (Maldonado y Aquino, 2016, p.39).

#### **1.4. Ratón *Mus musculus***

##### **Taxonomía y motivos de su uso:**

Clase: Mammalia

Familia: Muridae

Género: *Mus*

Especie: *Musculus*

Cepa: BALB/c

Algunas de las razones por las cuales se elige dicha especie como biomodelo de experimentación animal es debido principalmente a su pequeño tamaño, fácil cuidado, corto tiempo de procreación, facilidad de reproducción, costo reducido de manutención, cepa específica y son lo que se encuentran mejor caracterizados genéticamente, entre muchas otras, mientras que algunos de los problemas que presenta es su dificultad para obtener muestras biológicas, así como la administración de drogas (Suckow *et al.*, 2001, p. 10).

#### **1.5. Características generales**

El ratón es una especie animal que se encuentra presente alrededor de todo el mundo gracias a que se adecua fácilmente a una diversidad de condiciones ambientales, posee hábitos nocturnos y una conducta influida por sus feromonas (Mazón Fierro, 2011, p. 3).

Es capaz de diferenciar entre individuos de su familia e intrusos gracias a sus habilidades sensoriales como el olfato el cual se encuentra muy desarrollado, así también su increíble sentido del tacto que le permite guiarse y orientarse en la oscuridad, otro de los sentidos que se puede destacar en los ratones es su audición, confiriéndole la habilidad de responder a un vasto rango de secuencias ultrasónicas lo que les hace muy sensibles y por tanto perciben sonidos de muy baja frecuencia ( Paredes *et al.*, 2010b, p. 11) (Mazón Fierro 2011) (Mazón Fierro, 2011, p. 3-4).

Se recomienda tener sumo cuidado con el ruido que se pueda generar en el laboratorio debido a que ocasiona que el animal se altere, y por otra parte poseen una visión escasa, dado que no pueden distinguir los colores, pero son capaces de divisar en medio de la noche, percibir la profundidad y los movimientos hasta una distancia de 10 metros ( Paredes *et al.*, 2010b, p. 11) (Mazón Fierro 2011) (Mazón Fierro, 2011, p. 3-4).

Por lo general el tamaño del ratón en etapa adulta depende tanto de factores intrínsecos (genotipo, la edad y el sexo) como extrínsecos (dieta, temperatura ambiental y la cantidad de población por caja) lo cual hace que varíe entre los 12 a 15 cm desde la punta de su nariz hasta el final de su cola, en promedio el largo de su cola es igual al de su cuerpo y poseen un peso que varía entre los 25 a 30 gramos (Mazón Fierro, 2011, p.3).



**Figura 1-1:**Ratón *Mus musculus* cepa BALB/c

Realizado por: Castro, S. 2021.

### **1.6. Conducta usual del ratón**

Naturalmente viven en grandes colonias y son capaces de reconocer su rango social. Son animales sociables, forman grupos rápidamente después del destete, pasado la séptima a decima semana de edad ciertos machos pueden llegar a tomar una actitud agresiva para establecer un rango dominante, mientras que por lo regular las hembras no pelean aun cuando son agrupadas en edad adulta (Mazón Fierro, 2011, p.21).

### **1.7. Reproducción**

La reproducción está predominada por las feromonas, sustancias químicas que provocan comportamientos específicos hacia otros ratones. El estadio gestacional dura entre diecinueve a veintiún días y tras el posparto, entre las catorce a veintiocho horas se produce un estro fértil pudiendo concebir nuevamente.

Al presentarse la lactancia (21 días) y la gestación simultáneamente se produce un retraso de entre 3 a 5 días la implantación del embrión, por otro lado, si no se utiliza el estro, empieza el ciclo 5 días después del destete.

La actividad sexual del ratón se realiza en completa oscuridad. En perfectas condiciones pueden llegar a tener unas 10 crías por camadas. La hembra se caracteriza por ser una especie poliéstrica continua, presentando ciclos astrales durante todo el año con una interrupción cuando se encuentra en gestación, cada ciclo astral con una duración de 4 a 5 días y un celo de 12h (Suckow, Danneman and Brayton, 2001, p. 38).

Las crías al nacer pesan aproximadamente entre uno a dos gramos, no poseen pelo, nacen con sus ojos y oídos cerrados, no regulan la temperatura corporal. Entre el tercer día empieza a desarrollarse el crecimiento del pelo, pasado el décimo a décimo cuarto día empiezan abrir los ojos así como su conducto auditivo externo, mientras que al décimo sexto día empiezan a

consumir alimentos sólidos, tomar agua del bebedero y salen ya del nido, por ultimo transcurrido los veintiún días ocurre el destete y pesan cerca de once a catorce gramos (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010, p.11).



**Figura 2-1:** Ratones recién nacidos.

Realizado por: Castro, S. 2021.

### 1.8. Ambiente del ratón

El lugar donde habitan los animales de experimentación se denomina Bioterio, deberá brindar las condiciones ambientales necesarias para asegurar la comodidad y salud de los especímenes, creando un ambiente óptimo para que factores ambientales no generen estrés o perturbación de su conducta que ocasionen resultados confusos y variables (Hogan, Norton y Reynolds, 2020, p. 465-471).

**Tabla 1-1:** Recomendaciones de alojamiento para ratones de laboratorio según FELASA

| Bienestar Animal   | Ratones   |
|--|---|
| Dimensiones de jaulas (se puede incrementar durante la cría) | Menos de 20g de peso, 60 cm <sup>2</sup> por animal   |
|  | 25-30 g de peso, 80 cm <sup>2</sup> por animal  |
|  | Más de 30g de peso, 100 cm <sup>2</sup> por animal  |
| Número de animales por jaula                                 | 4-6   |
| Cantidad de alimento por día                                 | 3-6g  |
| Ingesta de agua por día                                      | 3-7 mL  |
| Temperatura  | 20°C a 24 °C  |
| Humedad  | 45-65%  |
| Ruido  | <20kHz  |
| Ciclos de luz/oscuridad                                      | 12 horas de luz/12 horas de oscuridad.  |
| Ventilación  | Ambiente controlado y purificado de 15 a 18 recambios de aire/hora. Animales en jaulas ventiladas. Controlar niveles de CO <sub>2</sub> |

|                           |   |
|---------------------------|---|
| Olores                    | Controlar el nivel de amoniaco                  |
| Lecho                     | Pino blanco, sin olores y libre de patógenos    |
| Enriquecimiento de jaulas | Papel, cajas de cartón, bastidores para escalar |

Fuente:(Romero-Fernandez et al. 2016, P. 290).

Realizado por: Castro, S. 2021.

### 1.8.1. *Microambiente*

Es el ambiente que rodea al ratón, el encierro primario el cual involucra su jaula, el alimento, el agua, y el lecho o “cama”. La jaula deberá contar con las dimensiones necesarias para que cada ratón pueda movilizarse adecuadamente y a su vez debe encontrarse en condiciones higiénicas óptimas.

#### 1.8.1.1. *Caja o jaula (recomendaciones de espacio)*

Es el lugar donde los ratones se alojan y debe estar especialmente elaborada para adaptarse a sus necesidades, brindando el espacio suficiente para asegurar su comodidad, bienestar y permitir que exprese su comportamiento normal. Por lo tanto, las necesidades de espacio de un animal son complejas y la consideración únicamente del peso corporal o de la superficie del animal puede resultar inadecuada (National Research Council, 2011, pg 57).

Las consideraciones importantes para determinar las necesidades de espacio incluyen la edad y el sexo de los animales, el número de animales que se alojarán en cohabitación y la duración del alojamiento, el uso al que se destinan los animales y cualquier necesidad especial que puedan tener para evitar la sobrecarga (National Research Council, 2011, pg 57).

La cría de animales requerirá más espacio, especialmente si los animales recién nacidos se criarán junto con su madre o como grupo de cría hasta la edad del destete. La calidad del espacio también afecta su usabilidad. Por lo tanto, no existe una fórmula ideal para calcular las necesidades de espacio de un animal basándose únicamente en el tamaño o el peso corporal (National Research Council, 2011, pg 58).

El requisito mínimo es que el animal tenga suficiente espacio para moverse, para acceder al alimento y al agua así como también un espacio limpio donde descansar y sin algún tipo de obstáculo para que pueda desplazarse cómodamente (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010b, p.25).

**Tabla 2-1:** Espacio mínimo recomendado para ratones alojados en grupos

| Animal                   | Peso Corporal (g) | Área de piso/Animal<br>( $cm^2$ ) | Altura |
|--------------------------|-------------------|-----------------------------------|--------|
| <b>Ratones en grupos</b> | <10               | 38.71                             | 12.7   |

|  |          |       |      |
|--|----------|-------|------|
|  | Hasta 15 | 51.61 | 12.7 |
|  | Hasta 25 | 77.42 | 12.7 |
|  | >25*     | 96.77 | 12.7 |

**Fuente:** (National Research Council, 2011, P.57).

**Realizado por:** Castro, S. 2021.

Suele estar fabricadas en plástico o metal con malla de acero inoxidable. Algunas de las características con las que debe contar es una altura de 12,7 cm, ser resistente al calor al someterlo a esterilización o al lavado y secado, paredes fáciles de lavar, tapa removible, adecuado flujo de aire, debe permitir visualizar fácilmente al animal y poder acceder fácilmente al agua y al alimento (Hogan, Norton y Reynolds, 2020, p. 465-471).

#### 1.8.1.2. Lecho

Es un factor ambiental que puede afectar tanto la salud del animal como al experimento. Bajo todas las condiciones de manejo y experimentales, ningún lecho es ideal para una especie en específico, ni en general, pero si deben cumplir con ciertas características como ser absorbente, estar exento de polvo fino, alérgenos y contaminantes microbianos y químico, así como poder ser desinfectados, no tener un desagradable olor, duro de masticar o guardar en la boca, apropiada para la anidación (Mazón Fierro, 2011, p. 37) (Fuentes *et al.*, 2008, p.26).

Se puede utilizar papel triturado o algodón como material de anidación. Los animales reproductores con crías recién nacidas no deben alojarse sobre una malla de alambre, ya que la termorregulación en los recién nacidos se vería afectada negativamente debido a la ausencia de material para el nido (Zutphen et al, 2001, p. 33).

Durante el transporte y almacenamiento, la ropa de cama no debe colocarse en el piso, puede colocarse encima de algún tipo de estante o también sobre pallets para mantener la calidad y minimizar la contaminación, mientras que, durante el proceso de autoclave, el lecho absorbe agua, lo que reduce la capacidad de absorción y facilita el crecimiento de microorganismos. Por lo tanto, se deben proporcionar el tiempo de secado y las condiciones de almacenamiento adecuados (Mazón Fierro, 2011, pg 37).

#### 1.8.1.3. Agua

Todos los días, los animales deben obtener agua potable limpia de acuerdo con sus requisitos particulares. La calidad y definición del agua potable pueden variar de un lugar a otro. Puede ser necesario realizar pruebas para garantizar la calidad del agua como determinar el pH, la dureza y la contaminación química y microbiológica de forma regular, especialmente si la composición

normal del agua en un lugar determinado puede afectar los resultados del estudio, especialmente si se ha utilizado dicha agua (National Research Council, 2011, pg 68)(Fuentes-Paredes *et al.*, 2010b, p. 27). El agua es un elemento vital para el desarrollo del animal por tanto debe ser suministrada durante todo su vida ya sean en bebederos de vidrio o de policarbonato.(Fuentes Paredes *et al.*, 2010b, p.27).

#### 1.8.1.4. Alimento

Por lo general, se administra el mismo tipo de dieta a todos los ratones independientemente de su edad, embarazo o lactancia. En promedio dependiendo del contenido energético de la dieta, se consumen aproximadamente 4-5 gramos por ratón. Dado que el ratón alcanza un tercio de su crecimiento total durante el período de lactancia, la lactancia impone una carga nutricional más pesada a la madre; esto puede influir en algunos requerimientos de nutrientes más que en otros (Zutphen *et al.*, 2001, p. 23) (Subcommittee on Laboratory Animale *et al.*, 1995, p. 80).

Los alimentos deben ser nutritivos, libres de cualquier tipo de contaminación y ser suministrada diariamente o según sus requerimientos especiales o como lo indique el protocolo del experimento a cuál va hacer sometido (Mazón Fierro, 2011, pg 40).

El área donde se va almacenar los alimentos debe ser un sitio limpio y cerrado para prevenir las plagas. No deben ser almacenados directamente en el suelo, sino sobre una tarima, un pallet o estante. Factores como altas temperas (superiores a 21°C), una humedad relativa alta, luz, oxígeno pueden acelerar el deterioro de los alimentos (Mazón Fierro, 2011, pg 40).

Las necesidades nutricionales de ratones *Mus musculus* adultos jóvenes, se pueden observar a detalle en la siguiente tabla:

**Tabla 3-1:** Parámetros Nutricionales

| Especie      | Consumo diario de agua | Alimentación/día | Proteínas digestibles % |
|--------------|------------------------|------------------|-------------------------|
| <b>Ratón</b> | 3-7ml                  | 3-6 g            | 12                      |

Fuente: (Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition *et al.*, 1995, P. 82).

Realizado por: Castro, S. 2021.

#### 1.8.2. Macroambiente

Es el espacio inmediato que rodea al microambiente, es decir el lugar de alojamiento de toda el área. Debe contar con condiciones óptimas, estables, cómodas y limpias. Entre los factores que deben tomarse en cuenta son iluminación, temperatura, humedad relativa, ruido, vibración, así como también el método de desinfección, lo cuales pueden llegar a modificando la respuesta del animal.

Es importante asegurar el saneamiento y desinfección del lugar de alojamiento y mantener controlado los factores ambientales. (Hogan, Norton y Reynolds 2020, p. 7) (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010, p. 29)

#### *1.8.2.1. Temperatura y humedad relativa*

El mantenimiento de la temperatura corporal es necesario para el bienestar de los animales, los mismos deben alojarse dentro de los rangos de temperatura y humedad apropiados para la especie, a los que puedan adaptarse con un mínimo de estrés y alteración fisiológica.

El rango de temperatura ambiente en el que se produce la termorregulación sin la necesidad de aumentar la producción de calor metabólico o activar los mecanismos de pérdida de calor por evaporación se denomina zona termoneutra (TNZ) y está limitada por las temperaturas críticas inferior y superior (ICT y SCT) (National Research Council, 2011, p. 43).

Para mantener la temperatura corporal bajo una temperatura ambiental dada, los animales se ajustan fisiológicamente (incluido su metabolismo) y conductualmente (incluido su nivel de actividad y uso de recursos). La TNZ de los ratones varía entre 20 ° C y 26 °, aunque los ratones eligen temperaturas por debajo de su ICT de 26 ° C durante los períodos de actividad, prefieren fuertemente temperaturas por encima de su SCT para los comportamientos de mantenimiento y descanso (National Research Council, 2011, p. 43).

La exposición a grandes fluctuaciones de temperatura y humedad puede resultar en cambios de comportamiento, fisiológicos y morfológicos, que pueden afectar negativamente el bienestar animal y el desempeño de la investigación, así como los resultados de los protocolos de investigación ya que puede aumentar la susceptibilidad a las infecciones transmitidas por el aire, especialmente si la humedad es alta (Zutphen *et al.*, 2001. p. 3).

La humedad relativa (Hr) macroambiental debe controlarse, pero no tan estrechamente como la temperatura; se considera que el rango aceptable de humedad relativa es del 30% al 70%, mientras que la humedad relativa microambiental puede ser de mayor importancia para los animales alojados en un recinto primario en el que las condiciones ambientales difieren mucho de las del macroambiente. En ratones, tanto la humedad anormalmente alta como la baja pueden aumentar la mortalidad antes del destete.

#### *1.8.2.2. Ventilación*

Internamente, el ambiente para la cría de animales debe mantener condiciones de ventilación con presión de aire positiva con respecto al pasillo o al área externa, para evitar la entrada de patógenos del exterior. El propósito principal de la ventilación es proporcionar una calidad de aire adecuada y un ambiente estable (National Research Council, 2011, p. 45-46).

Específicamente, la ventilación proporciona un suministro de oxígeno adecuado, elimina las cargas térmicas causadas por los animales y el personal, también diluye contaminantes gaseosos y particulados incluidos alérgenos y patógenos transportados por el aire; ajusta el contenido de humedad y la temperatura del aire del ambiente; y, cuando sea apropiado, crea diferenciales de presión de aire (flujo de aire direccional) entre espacios contiguos (National Research Council, 2011, p. 45-46).

El tipo de recinto primario puede influir considerablemente en las diferencias entre estos dos entornos; por ejemplo, las diferencias pueden ser insignificantes cuando los animales se alojan en jaulas abiertas o corrales, mientras que pueden ser significativas cuando se utilizan jaulas aislantes estáticas (National Research Council, 2011, p. 45-46).

Se debe suministrar de 10 a 15 cambios de aire fresco por hora en los alojamientos de los animales aceptable para mantener la calidad del aire macroambiental mediante sistemas de volumen constante y también puede garantizar la calidad del aire microambiental (National Research Council, 2011, p. 46).

### *1.1.1.3 Iluminación*

La iluminación es importante para regular el estro y el ciclo reproductivo, por lo que se recomienda configurar 12 horas de iluminación / 12 horas de oscuridad y usar el temporizador para programar (National Research Council, 2011, p. 47).

La luz puede afectar la fisiología, morfología y comportamiento de varios animales. Los fotoestresores potenciales incluyen fotoperiodo, fotointensidad y calidad espectral de la luz inapropiados (National Research Council, 2011, p. 47).

Numerosos factores pueden afectar las necesidades de luz de los animales y deben ser cuando se establece un nivel de iluminación apropiado para una sala de espera de animales. Estos incluyen la intensidad de la luz y la longitud de onda, así como la duración de la exposición actual y anterior del animal a la luz, y la pigmentación del animal, el ritmo circadiano, la temperatura corporal, el estado hormonal, la edad, la especie, el sexo y la población o cepa (National Research Council, 2011, pg 47).

En general, la iluminación debe difundirse por toda la bodega de los animales y proporcionar suficiente iluminación para el bienestar de los animales al tiempo que permite buenas prácticas de limpieza, una adecuada inspección de los animales, incluida la parte inferior de las jaulas en los estantes, y condiciones de trabajo seguras para el personal. La luz en las salas de espera de los animales debe proporcionar una visión adecuada y una regulación neuroendocrina de los ciclos diurnos y circadianos (National Research Council, 2011, pg 48).

### *1.8.2.2. Ruido*

El ruido producido por los animales y las actividades de cuidado animal es inherente a la operación de una instalación para animales y el control del ruido deben considerarse en el diseño y operación de la instalación (National Research Council, 2011, p. 49).

La evaluación de los efectos potenciales del ruido en un animal justifica la consideración de la intensidad, frecuencia, rapidez de aparición, duración y potencial de vibración del sonido y el rango de audición, historial de exposición al ruido y susceptibilidad a los efectos sonoros de la especie, población o colar (National Research Council, 2011, p. 49).

De manera similar, la exposición ocupacional a animales o prácticas de cuidado de animales que generan ruido puede ser motivo de preocupación para el personal y, si es de suficiente intensidad, puede justificar la protección auditiva (National Research Council, 2011, p. 49).

La separación de áreas de humanos y animales minimiza las perturbaciones a ambos ocupantes humanos y animales de la instalación. La exposición a sonidos superiores a 85 dB puede tener efectos tanto auditivos como no auditivos, por ejemplo, eosinopenia, aumento del peso de las glándulas suprarrenales y reducción de la fertilidad en roedores (National Research Council, 2011, p. 49).

Muchas especies pueden escuchar frecuencias de sonido inaudibles para los humanos, los roedores, por ejemplo, son muy sensibles a los ultrasonidos. Los efectos potenciales de los equipos y los materiales que producen ruido en el rango auditivo de los animales cercanos pueden convertirse en una variable incontrolada para los experimentos de investigación. En la medida de lo posible, las actividades que generan ruido deben realizarse en habitaciones o áreas separadas de las que se utilizan para el alojamiento de los animales (National Research Council, 2011, p. 49).

### *1.8.2.3. Olor*

El olor también puede llegar afectar al ratón, por lo que la utilización de agentes diseñados para enmascarar el olor solo deberá ser utilizado fuera de las salas de alojamiento y por ningún motivo sustituirá las buenas prácticas de saneamiento con agentes desinfectantes los cuales no deberán ser nocivos para el ratón, así como también la provisión de una ventilación adecuada para evitar la concentración de compuestos volátiles como el amoníaco, por lo que también se deberá cambiar continuamente el lecho para evitar la acumulación del mismo que podrían llegar a causar problemas metabólicos y fisiológicos.

### **1.9. Estandarización de los animales de experimentación**

La estandarización de un animal de experimentación se basa en definir sus propiedades las cuales deben mantenerse constantes o reguladas, así como también definir su entorno, esto debido principalmente para aumentar la reproducibilidad de los resultados obtenidos en una investigación y disminuir la variabilidad en los valores de medición en animales aparentemente idénticos en un experimento dado. Desde un punto de vista estadístico, una variación interindividual reducida de los valores medidos reduce el número de animales necesarios por experimento (Çelik *et al.*, 2018, p5).

En la estandarización hay que tener en cuenta que existen posibles variaciones ya sea los propios animales, su entorno o los procedimientos experimentales aplicados en ese momento. Los cambios en los valores medidos se pueden dar por dos razones: la primera es entre experimentos aparentemente iguales, lo que se denomina como variación inter-experimental. En segundo lugar, puede darse entre animales que parecen ser iguales en un experimento dado, lo que se denomina como variación intraexperimental o interindividual, en ambos las variaciones pueden deberse a las propiedades y al entorno del animal, incluidos los procedimientos experimentales (Maschi, 2017, p.9-12 ).

### **1.10. Extracción de sangre**

La extracción de sangre en animales de experimentación es necesaria para la validación de varios estudios de investigación, fundamentalmente en actividades farmacoterapéuticas, ya que permite evaluar individualmente el estado de salud del animal, así como también las condiciones clínicas, nutricionales y fisiológicas, mediante la determinación de parámetros hematológicos y bioquímicos de los animales utilizados (Barbosa *et al.*, 2017, p. 2) (Barbosa *et al.*, 2017, p.2).

Es importante conocer los rangos normales hematológicos y bioquímicos, ya que ayudan en la evaluación de la homeostasis debido a que los procesos patológicos pueden influir en el metabolismo y alterar los resultados obtenidos en los procedimientos experimentales (Santos *et al.*, 2016, p.139).

Tanto los parámetros hematológico como bioquímicos son realmente importantes dado que evalúan las alteraciones funcionales de los órganos, así como su etiología, además ayuda a establecer valores de referencia, los cuales se pueden ver influenciados por la edad, la raza, el sexo, estado reproductivo, tiempo de alimentación, la dieta, el manejo, el medio ambiente entre otros, por esta razón cada instalación (bioterio) que se dedique a la investigación en animales deben poseer datos de referencia propios (Barbosa *et al.*, 2017, p.2).

### ***1.10.1. Pruebas bioquímicas (Química sanguínea)***

Los parámetros bioquímicos en animales de laboratorio de mayor relevancia clínica incluye: glucosa, colesterol, triglicéridos, albúmina y proteínas totales (Igbokwe *et al.*, 2017, p.190).

- Glucosa: Principal tipo de azúcar presente en la sangre, su determinación permite el diagnóstico de diabetes, considerada una enfermedad crónica, para la medición del mismo es necesario tener un ayuno de al menos 4 horas, tiempo en el cual los glúcidos vuelven a sus valores normales, aunque lo más recomendable son 12h, permitiendo así que desaparezca el aumento de lípidos tras la ingesta de alimentos (Carrada Pérez, 2008, p. 60).

Es necesario evitar el estrés al momento de la toma de la muestra debido a que la generación de adrenalina y noradrenalina ocasionan un aumento en la concentración (Tapia, 2019,p. 34).

- La determinación del colesterol, así como de los triglicéridos permite un diagnóstico de enfermedades metabólicas, primarias y secundarias. Se producen principalmente en el hígado y tienen una excreción biliar.

Altos niveles de colesterol en la sangre están asociados a enfermedades coronarias, hipotiroidismo, síndrome nefrótico, entre otros, también se producen por causas fisiológicas como la preñez, el frío, edad avanzada (Tapia, 2019,p. 37).

- Albúmina: Se sintetiza en el hígado por lo tanto es un indicador de la función hepática. Representa más de la mitad de las proteínas séricas, osmóticamente activo por lo que la mayor parte de presión osmótica depende de ella. Se encarga de transportar sustancias menos solubles como ácidos grasos, hormonas, fármacos, etc (Tapia, 2019,p. 37).
- Proteínas totales: son compuestos orgánicos macromoleculares, distribuidos en todo el organismo, intervienen ampliamente en todos los procesos del ser vivo como elementos estructurales y de transporte.

Es un indicador de enfermedades hepáticas, así como también del estado nutricional. Su función es mantener la presión osmótica coloidal del plasma, evitando la pérdida de líquidos hacia los tejidos. Factores como la deshidratación (mal de Addison, acidosis diabética, diarrea grave), mieloma múltiple, endocarditis, provocan que todas las fracciones proteicas aumenten, dando lugar a una hiperproteinemia, mientras que condiciones patológicas como el síndrome nefrótico (pérdida de albúmina a través de los túbulos renales), desnutrición, infecciones prolongadas provocan una hipoproteinemia (S.A.I.C, 2012,p 1).

### ***1.10.2. Pruebas hematológicas (Biometría hemática)***

Incluyen el recuento de los componentes celulares como glóbulos rojos, hematocrito (HTC), concentración de hemoglobina (Hbc), volumen corpuscular medio (VCM), recuento de glóbulos blancos, recuentos diferenciales de células y recuento plaquetario. Puede ser analizado ya sea por

equipos automatizados como manualmente mediante un examen microscópico de frotis sanguíneo (Igbokwe *et al.*, 2017, p.190) (Mazón Fierro, 2011,p. 13).

#### 1.10.2.1. *Serie roja*

Se determina la cantidad de glóbulos rojos, así como su contenido de hemoglobina, proteína encargada del transporte de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> de los pulmones hacia los tejidos y viceversa puede llegar a variar de acuerdo a la edad, el sexo, altura sobre el nivel de mar. Por otra parte, la determinación de los índices eritrocitarios ayudan a identificar la posible etiología de una anemia, así tenemos:

- Volumen Corpuscular Medio (MCV): define el tamaño del glóbulo rojo, permitiendo clasificar como: microcítica, normocítica y macrocítica. Se expresa en fentolitros (fl).
- Hemoglobina corpuscular media (MCH): cuantifica la cantidad de hemoglobina que existe dentro de un glóbulo rojo. Se expresa en picogramos (pg) (Sarma, 1990, p. 247).
- Concentración media de hemoglobina corpuscular (MCHC): Indica el promedio de la concentración de hemoglobina por unidad de volumen (100ml). Se expresa en gramos por decilitros g/dl. Tanto la MCH como MCHC permiten clasificar a los eritrocitos como normocrómicos, hiperocrómicos e hipocrómicos (Santos *et al.*, 2017, p. 646).
- Amplitud de distribución eritrocitaria: Represente el coeficiente de variación del volumen de los eritrocitos. Se expresa como porcentaje (%). Permite cuantificar y expresar la anisocitosis (Sarma, 1990, p. 247).
- Reticulocitos: Son glóbulos rojos inmaduros que contiene aun restos de retículo endoplásmico en su citoplasma (Green, 1950,p. 371,372).

#### 1.10.2.2. *Serie Blanca*

Tienen un rol importante dentro del sistema inmunológico al proteger al cuerpo frente a microorganismos infecciosos y sustancias extrañas. La clasificación de los glóbulos blancos permite diagnosticar varias patologías o alteraciones de la sangre como la leucemia, ciertos tipos de trastornos inmunológicos, así como también detectar infecciones, inflamaciones, alergias, etc. Los principales tipos de leucocitos son granulocitos y agranulocitos.

Entre los granulocitos se encuentran los neutrófilos, basófilos y eosinófilos en una proporción del 60%. Son capaces de fagocitar virus, bacterias y parásitos, se caracterizan por presentar gránulos en el citoplasma y presentar núcleos largos o lobulados.

- Neutrófilos: Son las células más abundantes tanto en humanos como en ratones. Forman parte de la línea de defensa contra bacterias y son las primeras en acudir cuando se generan puntos de inflamación. Se caracterizan por presentar un núcleo multilobulado (de 3 a 4 lóbulos), son muy finos y pueden encontrarse superpuestos (Matthias Eberl, 2020, p. 1).

- Eosinófilos: tienen un núcleo bilobulado, varios gránulos citoplasmáticos de color rojo. Son capaces de liberar toxinas de sus gránulos para matar a los patógenos. Su número se puede ver afectado en presencia de alergias e infecciones por parásitos (Khamael et al, 2018, p.19).
- Basófilos: Representan menos del 1% y se caracterizan principalmente por presentar abundantes gránulos y de gran tamaño los cuales llegan a enmascarar el núcleo, dichos gránulos presentan histamina en su interior los cuales se tiñen de color azul oscuro. Segregan anticuerpos y sustancias anticoagulantes que son capaces de enfrentarse a reacciones de hipersensibilidad en el torrente sanguíneo (Khamael et al, 2018, p.19).

Los agranulocitos se caracterizan principalmente por carecer de gránulos citoplasmáticos visibles y poseer núcleos en forma de riñón, incluyen monocitos y linfocitos.

- Monocitos: Son el tipo más grande de glóbulos blancos y constituye del 2 al 8% del total de los mismos, se distinguen principalmente por presentar un solo núcleo en forma de riñón con escasos lóbulos. Se encargan de combatir infecciones crónicas (Khamael et al, 2018, p.23).
- Linfocitos: tienen un gran núcleo de color púrpura, su tamaño es un poco mayor al de los glóbulos rojos, la forma del núcleo es ligeramente ovalado y residen en el tejido linfático donde juegan un papel importante en la respuesta inmune (Khamael et al, 2018, p.24).

### **1.11. Punción cardiaca**

La punción cardiaca es un método adecuado para la obtención de una muestra única, de buena calidad y de gran volumen, siempre ha de realizarse bajo anestesia terminal. Los animales de experimentación deberán ser sacrificados una vez culminada la extracción de sangre.

La punción se realiza preferiblemente en el ventrículo, al cual se puede acceder fácilmente ya sea por el lado izquierdo o derecho del tórax, a través del diafragma y recostándolo al lado opuesto, es decir si la punción se realiza en el ventrículo izquierdo, el animal será recostado al lado derecho Fig. 3-1; otro método de punción es colocarlo decúbito supino e introducir la aguja por la parte inferior del esternón hasta el corazón el cual se encuentra a la altura del codo Fig. 3-2. La sangre debe extraerse lentamente para así evitar el colapso del corazón (Parasuraman et al., 2010, p. 92).



**Figura 3-1:** Extracción de sangre por punción cardiaca.  
**Fuente:**(Parasuraman et al. 2010) .



**Figura 4-1:** La aguja se inserta lateralmente y se dirige a través del diafragma hasta el ventrículo cardiaco.

**Fuente:** (Suckow, Danneman y Brayton 2001).

### 1.12. Volumen de extracción de sangre

Por punción cardiaca se puede llegar a obtener desde 0.1 ml hasta 1 ml dependiendo del tamaño del animal, y si el corazón se encuentra latiendo, mientras que por otro método de extracción de sangre no letal se puede llegar a extraer hasta un 10% del volumen total de sangre circulante Tab. 4-1 en un animal sano y bien nutrido, pudiendo repetirse el procedimiento de 3 a 4 semanas.

**Tabla 4-1:**Volumen de sangre circulante en Ratón adulto, sano y bien nutrido

| Especie      | Volumen de sangre (ml/kg) |
|--------------|---------------------------|
| <b>Ratón</b> | 78-80                     |

**Fuente:** (Morton et al. 2009)

**Realizado por:** Castro, S. 2021.

Por otra parte el método de extracción dependerá del volumen necesario para el estudio, de la periodicidad de toma de muestra y del estado de salud del animal.(Beeton, Garcia and Chandy, 2007, p. 1).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Lugar de Investigación

El estudio tuvo lugar en el Bioterio de la Facultad de Ciencias (ESPOCH), Panamericana Sur KM 1 ½ Riobamba- Ecuador, en el Laboratorio Clínico de la Cruz Roja de Latacunga ubicado la Av. Amazonas 101 y Hermanas Páez y en el Hospital Clínico Veterinario Chile ubicado en la ciudad de Ambato, parroquia Izamba, calle Pedro Vascones y Leónidas Jaramillo.

#### 2.2. Tipo y diseño de la investigación

El diseño fue cuantitativo, aplicativo, inferencial, deductivo-inductivo, transversal, prospectivo y de tipo no experimental ya que no se manipula ninguna variable

#### 2.3. Población de estudio

Conformado por 40 ratones de la especie *Mus musculus* BALB/c, 20 hembras y 20 machos con una edad aproximada entre 2- 3 meses de edad y un peso de 25 a 30 gramos divididos en siete jaulas. Los animales fueron criados y reproducidos en el bioterio de la carrera de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH y mantenidos en una sala especial a una temperatura de 22°C, una humedad del 65%, con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, mientras que de lecho se utilizó tamo. La alimentación fue de 5g por día, con una ingesta de agua de 7ml diarios.

#### 2.4. Selección y tamaño de la muestra

Para el presente estudio se utilizó el método probabilístico-aleatorio simple, por conveniencia, para que todos los elementos de la población objetivo y todas las muestras posibles tengan la misma probabilidad de ser seleccionados. Es decir, de los 95 ratones de la especie *Mus musculus* presentes en el Bioterio se seleccionaron 40 ejemplares para el estudio.

$$p=q=0.5$$

$$d=10\%=0.10$$

$$Z_{90\%} = 1.65$$

$$N=95$$

$$n = \frac{N(Z^2)(p)(q)}{d^2(N-1) + (Z^2)(p)(q)}$$

$$n = \frac{95(1.65^2)(0.5)(0.5)}{0.10^2(95-1) + (1.65^2)(0.5)(0.5)}$$

$$n=39,89$$

n: tamaño de muestra

Z: grado de confianza

N: tamaño del universo

D: grado de precisión deseado

P: probabilidad en contra (0.5)

q: 1.0 - p

## **2.5. Análisis Estadístico**

Se utilizó el programa Minitab 18, y se analizó los datos mediante el test paramétrico: “t” de 2 muestras para correlacionar los resultados obtenidos, medias y desviación estándar entre ambos sexos para determinar si existe diferencia significativa entre la media de los 2 grupos.

## **2.6. Técnicas de recolección**

- Muestras biológicas de ratones *Mus musculus*
- Distintas técnicas para el análisis de las muestras de sangre

## **2.7. Materiales, Equipos y Reactivos**

### **2.7.1. Materiales**

- Algodón
- Jeringas de 1ml
- Agujas de 25G
- Tubos pediátricos tapa lila con anticoagulante EDTA
- Tubos pediátricos sin anticoagulante
- Portaobjetos
- Pipetas automáticas
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Puntas de pipetas
- Cronómetro
- Cubeta
- Varillas paralelas
- Frasco lavador

### **2.7.2. Equipos**

- Equipo automatizado Cobas c111 (Química)
- Equipo automatizado Abaxis VetScan HM5
- Equipo semiautomatizado Rayto RT-1904C
- Microscopio

- Centrifuga
- Homogeneizador

### **2.7.3. Reactivos**

- Ketamina
- Xilaxina
- Colorante Wright
- Solución buffer
- Disolución metanólica de colorante de triarilmetano
- Disolución acuosa tamponada de xanteno
- Disolución acuosa tamponada de colorante derivados de tiazina
- Alcohol potable
- Agua destilada
- Aceite de inmersión
- Proteínas Totales (QCA)
- Albúmina (QCA)
- Colorante de Wright

## **2.8. Metodología**

### **2.8.1. Inoculación intraperitoneal de anestesia**

#### **Procedimiento**

- Inmovilizar correctamente al ratón e inclinarlo con el fin de alejar el paquete abdominal del sitio de punción.
- Realizar una asepsia del sitio de punción con alcohol al 70%
- Trazar una línea imaginaria sobre sus rodillas, cruzando el área abdominal y una línea longitudinal que divida el área abdominal.
- La aguja deber ser insertada al lado derecho y lo más cerca posible al punto de intersección entre las dos líneas imaginarias. De esta manera se disminuye el riesgo de inyectar en el ciego o vejiga urinaria.
- La aguja debe ser introducida una profundidad de 0,5 mm y con un grado de inclinación de 30° con respecto a la superficie del abdomen.

- Aspirar para asegurarse que no se haya alcanzado ningún vaso sanguíneo, ciego o vejiga urinaria.
- Inyectar una solución de KETAMINA/XILAZINA a una concentración de 17.5 mg/mL/2.5 mg/mL usando una jeringa de 1mL con aguja N°25 G.
- Retirar la aguja y presionar ligeramente la zona de punción.

### **2.8.2. Extracción de sangre por punción cardíaca**

Previa a la recolección de la muestra los animales seleccionados deberán tener un ayuno de 12 horas para obtener resultados en niveles basales.

#### **Procedimiento**

- Colocar el animal decúbito supino.
- Desinfectar el área de punción.
- Introducir la aguja por la parte inferior del esternón hasta el corazón.
- Extraer la sangre muy lentamente para evitar que el corazón colapse.
- Recolectar la muestra de sangre en los tubos correspondientes según en el análisis clínico a realizar. Las pruebas a realizarse son: índices hematológicos (primarios y secundarios) y bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, albúmina y proteínas totales)
- Colocar las muestras en un cooler, a una temperatura de 10°C y transportarlos hasta el sitio de análisis.

NOTA: los análisis serán realizados en el mismo día o máximo en la mañana siguiente.

### **2.8.3. Pruebas hematológicas**

Para el análisis de los valores hematológicos una vez recolectados en el tubo con anticoagulante (EDTA), se analizará una muestra de sangre total en el equipo Abaxis VetScan HM5, un equipo estrictamente utilizado en veterinaria y con una muestra de al menos 50 microlitros.

#### **Procedimiento:**

- Seleccionar “medir”
- Seleccionar “analizar”
- Posteriormente se elige la especie a analizar
- Ingresar los datos del paciente
- Homogenizar la muestra manualmente de 10 a 15 veces.
- Retirar la tapa y colocar en la apertura que indica el equipo
- Seleccionar analizar y esperar que el equipo arroje los resultados

### 2.8.3.1. *Frotis sanguíneo*

Para ello se tomará una pequeña muestra del tubo con anticoagulante (tubo lila con EDTA) y se realizará mediante dos tinciones

#### **Procedimiento:**

- Colocar una gota de sangre en un extremo de un portaobjetos
- Apoyar uno de los bordes del portaobjetos contra el portaobjetos con la muestra, formando un ángulo de 30° a 40 °
- Arrastrar el porta de extensión hasta contactar con la gota de sangre, permitiendo que la muestra se extienda por todo el borde corto del porta de extensión.
- Deslizar el porta de extensión sobre el porta de la muestra con un movimiento rápido y continuo formando una capa uniforme.

#### **Tinción Wright**

- Colocar las varillas paralelamente sobre una cubeta
- Colocar el porta con las extensión sobre las varillas
- Cubrir la extensión con solución Wright (fijador) durante 2 minutos.
- Añadir agua destilada.
- Soplar ligeramente hasta homogenizar la mezcla haciendo que se produzca un efecto espejo, durante 3 a 4 minutos.
- Lavar el frotis con agua destilada hasta eliminar los restos de colorante
- Secar la extensión al aire.
- Colocar aceite de inmersión y observar al microscopio con el lente de 100X.

### 2.8.4. *Pruebas Bioquímicas*

Previamente para la realización de las pruebas Bioquímicas se requiere centrifugar las muestras a 3200 rpm durante 10 minutos para obtener suero con el cual se trabajará.

- Para la realización de ciertas pruebas Bioquímicas como glucosa, colesterol y triglicéridos se realizaron en el equipo automatizado Cobas C3.

#### **Procedimiento:**

- Pipetiar 10 µl de suero en cada una de las cubetas
- Introducir en el anillo para cubetas
- Seleccionar la pestaña de “general”
- Introducir el código de la muestra, mismo que se encuentra bajo el encabezado de “Órdenes”
- Seleccionar las pruebas
- Esperar que la celda de cada prueba seleccionada se encuentre en color verde lo cual indica que la prueba está cargada y lista para utilizarse

- Iniciar el análisis y esperar que equipo arroje los resultados
- Para el análisis de las pruebas bioquímicas de albúmina y proteína total se realizó en el equipo semiautomático Rayto RT-1904c.

#### **Procedimiento Proteínas Totales:**

- Colocar 1000 µl de reactivo de proteínas totales en un tubo de ensayo
- Colocar 20 µl de suero en el mismo tubo de ensayo.
- Mezclar y dejar 10 minutos a temperatura ambiente.
- Seleccionar en el equipo la pestaña "principal" y se nos despliega las pruebas.
- Seleccionar "PT"
- Revisar que todos los datos sean correctos.
- Seleccionar la pestaña de OK.
- Introducir el tubo con agua destilada por la manguera cuando la pantalla del equipo lo indique, evitando la succión de burbujas.
- Esperar a que el equipo requiera la muestra.
- Absorber la muestra introduciendo la manguera hasta el final del tubo
- Esperar a que el equipo arroje los resultados

#### **Procedimiento Albúmina:**

- Realizar una limpieza previa de la manguera si anteriormente se ha realizado una prueba diferente, absorbiendo agua destilada.
- Seleccionar el botón de Rinse
- Colocar 2500 µl de reactivo de proteínas totales en un tubo de ensayo
- Colocar 10 µl de suero en el mismo tubo de ensayo
- Mezclar y dejar 5 minutos a temperatura ambiente
- Seleccionar "ALB"
- Revisar que todos los datos sean correctos.
- Seleccionar la pestaña de OK.
- Introducir el tubo con agua destilada por la manguera cuando la pantalla del equipo lo indique, evitando la succión de burbujas.
- Esperar a que el equipo requiera la muestra.
- Absorber la muestra introduciendo la manguera hasta el final del tubo

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS

#### 3.1. Resultados de los parámetros hematológicos y bioquímicos

A lo largo de la historia en investigación médica, los ratones han sido una herramienta importante en el avance de la ciencia, permitiendo al investigador el desarrollar nuevos fármacos, nuevos procedimientos quirúrgicos, investigación de enfermedades, pruebas de seguridad y toxicidad de nuevas sustancias.

Por tanto, establecer los parámetros hematológicos y bioquímicos en ratones permite al investigador conocer información vital sobre la respuesta del cuerpo ante diferentes enfermedades, así como sus tratamientos.

Establecer los parámetros de manera tan general no es posible ya que pueden llegar a variar dependiendo de la edad, alimentación, sexo, medio ambiente, factores genéticos entre otros por lo que es necesario establecer los valores de referencia propios para cada Bioterio.

El presente estudio es el primero que se lleva a cabo dentro de la institución con el objetivo de establecer una base de datos de referencia de parámetros hematológicos y bioquímicos en ratones *Mus musculus* en el Bioterio de la ESPOCH para beneficio de futuros investigadores.

**Tabla 1-3:** Indicadores hematológicos de referencia, media  $\pm$  desviación estándar (Línea blanca), de Ratones *Mus musculus* machos y hembras del Bioterio de la ESPOCH

| VARIABLE   | UNIDAD      | SEXO    | N  | MEDIA $\pm$ DESV.EST |
|------------|-------------|---------|----|----------------------|
| LEUCOGRAMA |             |         |    |                      |
| WBC        | $10^3/mm^3$ | Hembras | 20 | 4111,15 $\pm$ 0,883  |
|            |             | Machos  | 20 | 4492,36 $\pm$ 1,337  |

**Realizado por:** Castro, S. 2021.

Según el análisis estadístico realizado la media de glóbulos blancos es de 4,111  $10^3/mm^3$  para hembras y de 4,492  $10^3/mm^3$  para machos, no se observa diferencia significativa entre la media de glóbulos blancos de ambos géneros.

Los valores determinados en este ensayo difieren de los rangos que se determinan en las investigaciones por Barbosa con una media de 2,6  $10^3/mm^3$ , es posible que la variación dependa las condiciones ambientales de dicho estudio al presentar un ciclo de luz 14h/oscuridad 10h, una

temperatura de 22°C, así como por el equipo hematológico utilizado ABC VET (Barbosa et al. 2017, p. 3).

Por otro lado, las variaciones en el recuento de leucocitos, pueden estar relacionadas con el método de recolección de la muestra (retroorbitaria), ya que la manifestación de estrés por parte del animal durante el procedimiento promueve la liberación de adrenalina, lo que resulta en la movilización de neutrófilos de la médula ósea, a los vasos y luego aumento en los valores de los neutrófilos y por consiguiente en los leucocitos totales.

Si bien existe diferencias estadísticamente significativas, cuando se compararon estos resultados con la información encontrada, se consideran que están dentro del rango normal de variación para la especie animal y linaje.

Otro estudio encontrado realizado por Fernández et al. también muestra diferencias significativas con el presente estudio al mostrar un media de  $1,53 \cdot 10^3 /mm^3$ . Las diferencias se deben a las condiciones ambientales con ciclos de luz/oscuridad de 14/10 respectivamente, así como también a factores intrínsecos como no poseer pelaje es decir que se encuentra desnudo y al equipo hematológico utilizado, en este caso Horiba (Fernandes et al. 2018, p. 2).

Según el estudio realizado por Santos et al. en tres tipos diferentes de cepas en las que se evalúa a la cepa en estudio con una media de glóbulos blancos es de  $2,6 \cdot 10^3 /mm^3$ . lo que difiere con nuestro estudio, esto debido a que las condiciones ambientales fueron diferentes con una humedad relativa de  $55 \pm 10\%$ , por el tipo de dieta proporcionada la cual se preparó según las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición (IAN) para ratones adultos, contenía 100g/kg de sacarosa, 80g/kg aceite de maíz, 10g/kg de fibra, 2,5 g/kg de bitartrato de colina, 1.5 g/kg l-metionina, 40 g/kg de mezcla de minerales, 10 g/kg de mezcla de vitaminas, 120g/kg de caseína y 636 g/kg de maicena, por el método de extracción utilizada en este caso por punción en el plexo axilar y la cantidad de anestesia suministrada xilazina (16mg/kg) y Ketamina (120mg/kg), así como también por el equipo automatizado utilizado (Horiba), por otra parte también los valores entre cepas difieren mínimamente con la cepa Swiss Webster mientras que con la cepa C57BL//6 existe una diferencia más notable a pesar de utilizar las mismas técnicas para la recolección de datos (Santos et al. 2016, p.140).

**Tabla 2-3:** Recuento diferencial de leucocitos

| PARÁMETROS  | SEXO   | N  | MEDIA ± DESV.EST. |                     |
|-------------|--------|----|-------------------|---------------------|
|             |        |    | (%)               | (/mm <sup>3</sup> ) |
| SEGMENTADOS | HEMBRA | 20 | 22,350±5,16       | 1090,07±247         |
|             | MACHO  | 20 | 21,550±3,993      | 1287,13±341         |
| LINFOCITOS  | HEMBRA | 20 | 68,55±5,73        | 2962,06±617         |
|             | MACHO  | 20 | 69,32±12,04       | 3141,21±938         |

|                    |        |    |             |            |
|--------------------|--------|----|-------------|------------|
| <b>MONOCITOS</b>   | HEMBRA | 20 | 5,280±1,618 | 59.02±13,6 |
|                    | MACHO  | 20 | 4,050±1,572 | 64,2±21,2  |
| <b>EOSINOFILOS</b> | HEMBRA | 20 | 1,8±0,696   | -          |
|                    | MACHO  | 20 | 1,6±0,587   | -          |
| <b>BASÓFILOS</b>   | HEMBRA | 20 | 1,8±0,988   | -          |
|                    | MACHO  | 20 | 1,9±0,945   | -          |
| <b>CAYADOS</b>     | HEMBRA | 20 | 0,35±0,137  | -          |
|                    | MACHO  | 20 | 0,25±0,102  | -          |

**Realizado por:** Castro, S. 2021.

En la tabla 2-3 se observa el recuento diferencial de leucocitos, el cual consistió en la evaluación de glóbulos blancos totales, así como de los cinco tipos de leucocitos que se originan en las tres series hematopoyéticas a saber: de la serie granulocítica presentes neutrófilos, eosinófilos y basófilos, de la serie linfocítica, los linfocitos y de la serie monocítica, los monocitos.

Los valores analizados en porcentaje coinciden con Fernández en cuanto a neutrófilos segmentados y linfocitos, pero difieren en relación a monocitos y eosinófilos mientras que para basófilos no se reportó células encontradas en dicho estudio (Fernandes et al. 2018, p. 3945)

En relación a los datos obtenidos por Barbosa estos difieren grandemente en cuanto a monocitos, eosinófilos y basófilo el cual no se reportó, mientras que para segmentado guarda una relación entre los datos obtenidos para hembras y difieren en cuanto a machos, mientras que para linfocitos existe una ligera relación en los datos. (Barbosa et al. 2017, p. 3)

Según Santos los valores obtenidos en ratones machos no guardan relación en ninguno de los parámetros a nivel de equipo ni en cuanto al conteo manual de las células a excepción de los segmentos los cuales presentan una estrecha relación con los datos obtenidos para macho mediante el conteo manual (Santos et al. 2016, p. 141)

Curiosamente en todos los casos observados en literatura la población de linfocitos es la que predomina en sangre periférica lo que corresponde al menos, al 70% del total de leucocitos seguida de los neutrófilos. A diferencia de los roedores en los seres humanos la población predominante son los neutrófilos segmentados en comparación con los linfocitos (Santos et al. 2016, p. 144).

Este recuento puede variar de acuerdo con la edad, el género y la raza, así como también se puede observar una diferencia según el método utilizado ya sea este manual el cual puede llegar a tener

un coeficiente de variación (inexactitud) que varía entre el 6.5% para los recuentos normales o altos y del 15% para los recuentos bajos.

Esta variación se debe a que puede presentar problemas de preparación y coloración de los extendidos, errores en la distribución de las células en el extendido de la sangre periférica, el reconocimiento de células y errores estadísticos debido a que solo se analizan 100 células, por otra parte, con el método automatizado puede llegar a un coeficiente de variación entre 1% y 3% respectivamente.

Por otro lado, con el método manual permite visualizar minuciosamente células atípicas que el equipo pudiera llegar a pasar por alto como es el caso del presente estudio en el que el equipo automatizado de hematología (Abaxis VetScan HM5) no detecto basófilos ni eosinófilos mientras que al observar en el frotis se pudo realizar el conteo de las células, se identificó células inmaduras cayados y ciertas células anormales con satelitismo plaquetario y células en apoptosis.

El satelitismo plaquetario si bien no se considera un fenómeno, se produce por la unión al anticoagulante EDTA observándose solamente agregación plaquetaria alrededor de los neutrófilos, así mismo la presencia de células en apoptosis y células inmaduras demuestran una posible infección (González y Mora, 2002, p. 41)(Zúñiga et al., 2002, p. 189)

**Tabla 3-3:** Indicadores hematológicos de referencia, media  $\pm$  desviación estándar de Ratones *Mus musculus* machos y hembras del Bioterio de la ESPOCH.

| VARIABLE           | UNIDAD      | SEXO    | N  | MEDIA $\pm$ DESV.EST |
|--------------------|-------------|---------|----|----------------------|
| <b>ERITROGRAMA</b> |             |         |    |                      |
| <b>RBC</b>         | $10^6/mm^3$ | Hembras | 20 | 8,507 $\pm$ 0,917    |
|                    |             | Machos  | 20 | 8,531 $\pm$ 0,627    |
| <b>HGB</b>         | g/dL        | Hembras | 20 | 12,260 $\pm$ 2,691   |
|                    |             | Machos  | 20 | 11,380 $\pm$ 5,16    |
| <b>HCT</b>         | %           | Hembras | 20 | 38,52 $\pm$ 5,41     |
|                    |             | Machos  | 20 | 36,51 $\pm$ 10,53    |
| <b>MCV</b>         | fl          | Hembras | 20 | 56,909 $\pm$ 1,736   |
|                    |             | Machos  | 20 | 54,63 $\pm$ 10,28    |
| <b>MCH</b>         | pg          | Hembras | 20 | 18,730 $\pm$ 1,909   |
|                    |             | Machos  | 20 | 15,589 $\pm$ 2,632   |
| <b>MCHC</b>        | g/l         | Hembras | 20 | 32,875 $\pm$ 3,506   |
|                    |             | Machos  | 20 | 31,19 $\pm$ 5,09     |

Realizado por: Castro, S. 2021.

El recuento sanguíneo de la línea roja, es decir glóbulos rojos (RBC), índices eritrocitarios, fue realizado utilizando el analizador Abaxis VetScan HM5 totalmente automatizado y de uso estrictamente veterinario.

Al comparar los resultados del presente estudio con los valores expresados en la literatura, se observaron cierta divergencia en cuanto a los parámetros de RBC, MCV, MCHC y ciertas similitudes para parámetros hematológicos como HCT y HGB según Fernández, por otra parte, estudios realizados por el Consejo Canadiense de protección Animal (CCPA) muestra cierta diferencia en cuanto a MCV y MCHC, cabe recalcar que en dicho estudio no se especifica la cepa utilizada (Fernández et al. 2018,p. 3945) (CCPA, 1998, p.1).

Estudios realizados por Barbosa difieren en RBC, MCV pero muestran una similitud en cuanto a los parámetros de HGB, HCT en macho y MCHC en hembras. Por otro lado, un estudio realizado por edades se observa que se encuentra diferencias en cuanto a RBC, HGB, HCT, MCV y MCH. Por último un estudio realizado por Santos indica una relación en cuanto a MCH y MCHC pero difieren en cuanto a los parámetros de RBC,HGB, HCT y MCV (Santos et al. 2016,p. 141)(Pessini et al. 2020, P. 17) (Barbosa et al. 2017)

Se cree que el desacuerdo entre los valores de MCV y MCHC se debe a la presencia de eritrocitos inmaduros, que tienen mayor volumen celular en comparación con los glóbulos rojos maduros, los cuales circulan en sangre debido a la acción endocrina del bazo y el hígado en respuesta a una mayor necesidad de absorción de oxígeno. también se debe a condiciones ambientales distintas, como al equipo hematológico utilizado y como es el caso del estudio de Fernández aparte de los factores externos también se debe a que el animal se encuentra desnudo.

Según estudios similares encontrados en la misma cepa, se puede apreciar que los valores obtenidos se encuentran dentro del rango y son aparentemente normales

**Tabla 4-3:** Indicadores hematológicos de referencia, media  $\pm$  desviación estándar (Plaquetas), de Ratonos *Mus musculus* machos y hembras del Bioterio de la ESPOCH.

| VARIABLE    | UNIDAD           | SEXO    | N  | MEDIA $\pm$ DESV.EST |
|-------------|------------------|---------|----|----------------------|
| TROMBOGRAMA |                  |         |    |                      |
| PLT         | /mm <sup>3</sup> | Hembras | 20 | 687,0 $\pm$ 267,4    |
|             |                  | Machos  | 20 | 856,0 $\pm$ 384,0    |

Realizado por: Castro, S. 2021.

Según mi estudio la media de plaquetas para hembras es de 687,0/ mm<sup>3</sup> y para machos de 856.0/mm<sup>3</sup>. En todos los casos encontrados en literatura estos se encuentran de manera generalizada y no por género, es así que según Fernández la media de plaquetas es de 450,70 /mm<sup>3</sup> lo que muestra que difieren totalmente con los datos obtenidos, al igual que los datos obtenidos por Peissini el cual difiere con los ratones de las edades de 7 y 28 días mientras que con los ratones de edad de 21 días guarda una relación con los datos obtenidos para machos, por otra parte los resultados se relacionan con los obtenidos por Barbosa tanto para machos como

hembras, así como también los datos obtenidos por Santos se relaciona con los datos obtenidos para hembras. (Santos et al. 2016)(Pessini et al. 2020,p. 37)(Barbosa et al. 2017,p. 3)(Fernandes et al. 2018,p. 3945)

**Tabla 5-3:** Indicadores Bioquímicos, media  $\pm$  desviación estándar de Ratones *Mus musculus* machos y hembras del Bioterio de la ESPOCH.

| VARIABLE                 | UNIDAD | SEXO    | N  | MEDIA $\pm$ DESV.EST |
|--------------------------|--------|---------|----|----------------------|
| <b>GLUCOSA</b>           | mg/dl  | Hembras | 20 | 112,4 $\pm$ 50,0     |
|                          |        | Machos  | 20 | 124,4 $\pm$ 58,7     |
| <b>COLESTEROL</b>        | mg/dl  | Hembras | 20 | 105,79 $\pm$ 27,52   |
|                          |        | Machos  | 20 | 165,1 $\pm$ 68,7     |
| <b>TRIGLICERIDOS</b>     | mg/dl  | Hembras | 20 | 116,40 $\pm$ 44,20   |
|                          |        | Machos  | 20 | 147,49 $\pm$ 27,12   |
| <b>PROTEINAS TOTALES</b> | g/dl   | Hembras | 20 | 5,150 $\pm$ 0,3472   |
|                          |        | Machos  | 20 | 5,182 $\pm$ 0,526    |
| <b>ALBÚMINA</b>          | g/dl   | Hembras | 20 | 2,168 $\pm$ 0,457    |
|                          |        | Machos  | 20 | 2,257 $\pm$ 0,669    |

**Realizado por:** Castro, S. 2021.

Según literatura, la información sobre la medición de parámetros bioquímicos en ratones BALB/c es escasa y, por lo tanto, encontramos dificultades para comparar los resultados obtenidos. En el análisis de los niveles séricos, encontramos que la mayoría de analitos están de acuerdo con la literatura consultada, pero estos autores no mencionan que cepa utilizaron para establecer los valores de referencia.(Almeida et al. 2008, p. 431)

Los resultados obtenidos en los análisis bioquímicos entre ambos géneros presentaron diferencias significativas en las determinaciones de glucosa, colesterol y triglicéridos debido al factor sexo. Según los valores obtenidos no coinciden con ninguno de los datos establecidos por Almeida a excepción de las proteínas totales los cuales coinciden con los valores obtenidos en el estudio, por otra parte, estudios realizados por Santos muestran una coincidencia con los parámetros de glucosa, proteínas totales, y albúmina mientras que los parámetros de colesterol y triglicéridos no coinciden con lo expuesto en la literatura. Todas estas variaciones se deben ya sea al equipo utilizado como a las condiciones físicas, climáticas.(Santos et al. 2016,p. 142) (CCPA, 1998, p.1).

## CONCLUSIONES

- La estandarización de valores de referencia para los parámetros bioquímicos y hematológicos para los ratones *Mus musculus* son de suma importancia para la validación de varios estudios. Los resultados presentados aquí están dentro de los valores encontrados en literatura presentando una ligera variación debido a las características de la especie como sexo, cepa, edad, condiciones de salud y otros factores intrínsecos y extrínsecos, por tanto, es fundamental mantener unas condiciones ambientales estables para tener una mayor confianza en la reproducción de los resultados.
- Es necesario estandarizar los valores de referencia en cada bioterio ya que reflejan únicamente la condición de la población a las que se aplicara las pruebas.
- No se encontró alteraciones cuantitativas en relación con los valores de referencia comparados, por otra parte, en cuanto a la morfología se encontró la presencia mínima de células inmaduras cayados, así como de células en apoptosis y satelitismo plaquetario
- Existe diferencia significativa entre machos y hembras en cuanto a los índices secundarios, plaquetas y parámetros bioquímicos como glucosa, colesterol y triglicéridos en el mismo estudio, así como también en la literatura debido a que el sexo es un factor predisponente para las variaciones.

## RECOMENDACIONES

- Es fundamental contar con una dieta equilibrada de formulación conocida y reproducible para asegurar no solo el bienestar de los animales, sino también la calidad de los resultados experimentales, con el fin de reducir la variación inherente de la dieta, facilitando la interpretación y comparación de resultados.
- Estandarizar las condiciones ambientales del bioterio que influyen en el individuo para poder realizar comparaciones más precisas en estudios posteriores
- Establecer un Comité de Ética por parte de la Universidad que nos permita regular el uso estrictamente necesario de animales en la investigación
- Realizar un examen coproparasitario para evaluar microbiológicamente el estado de salud del animal.
- Realizar estudios en otras zonas del Ecuador con una diferente altitud y situación geográfica, para obtener valores de referencia reales para cada zona del país.

## GLOSARIO

**Alojamiento primario:** generalmente una jaula, constituye los límites del ambiente inmediato del animal. Este debe permitir satisfacer las necesidades fisiológicas y de conducta del animal, permitiendo el acceso al agua y alimento y también brindar facilidades para el cambio, limpieza, etc. (Carrada Pérez, 2008, p. 60).

**Alojamiento secundario:** todos los componentes de las instalaciones para animales, incluyendo salas de animales y espacios de apoyo (sala de almacenamiento, instalaciones, sala de lavado de jaulas, corredores y salas para cuarentena y procedimientos) (Tapia, 2019, p. 37)

**Área limpia:** áreas cerradas, con características especiales de limpieza y uso de sustancias desinfectantes. Tienen sistemas de suministros de aire, con diferencias de presión (Mazón Fierro, 2011, p. 13).

**Cepa:** grupo de animales comprendido dentro de una especie o variedad, de ascendencia conocida, mantenidos en un sistema de acoplamiento consanguíneo planificado, que se caracteriza por alguna propiedad en particular. (Hogan, Norton y Reynolds 2020, p. 7).

**Colina:** nutriente necesario para la regulación de la memoria, del estado de ánimo y para la formación de las membranas que rodean las células del organismo. (Leon, 2017, p.1).

**Colonia:** grupo de animales que representa una fuente genética única, producida bajo condiciones idénticas de gestión con fines de reproducción. (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010, p. 29).

**Estrés:** reacción de los organismos vivos a diversos estímulos adversos, internos o externos, que tienden a alterar el equilibrio psicológico y fisiológico de un animal, a través de su exposición a condiciones extremas, señalándose a ésta última como “diestrés” (Guimarães *et al.*, 2016, p.218).

**In vivo:** Se refiere a la experimentación realizada en un organismo vivo

**Modelo biológico:** que posee una estructura que reproduce un efecto, proveniente del sujeto original. Se usa para extrapolar resultados desde una especie animal hacia el ser humano. (Kolar, 2006, p. 113).

**Reproducible:** es la capacidad de un ensayo o experimento de ser reproducido o replicado en cualquier lugar y por cualquier persona en particular, por la comunidad científica (Cuba *et al.* 2010, p. 118).

**Xenoinjerto:** Tejido tumoral que se extrae de un paciente y se implanta en ratones con fines de investigación (INC, 2019, p.1).

## BIBLIOGRAFÍA

**ALMEIDA; et al.,** 2008, Valores de referência de parâmetros bioquímicos no sangue de duas linhagens de camundongos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, [en línea] vol. 44, no. 6, pp. 429-432. ISSN 1676-2444. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/FSQq4hnQp35JXWJkvQvCpKg/?lang=pt>

**BARBOSA, B; et al.,** 2017. Perfil hematológico e bioquímico de camundongos da linhagem Balb-c. *Acta Scientiae Veterinariae* [en línea], vol. 45, no. 1477, pp. 1-5. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/b116/fbfa4877e8f2526f5ec2909298686a74a853.pdf>.

**BEETON, C; et al.,** 2007. Drawing blood from rats through the saphenous vein and by cardiac puncture. *Journal of Visualized Experiments* [en línea], (United State of America) no. 7. [Consulta: 2 julio 2021]. ISSN 1940087X. DOI 10.3791/266. Disponible en: </pmc/articles/PMC2565848/>.

**CARRADA PÉREZ, M.S.,** 2008. *Carta al editor* [en línea]. 2008. S.l.: s.n. [Consulta: 15 julio 2021]. Disponible en: [http://www.dge.gob.pe/Boletin\\_sem/](http://www.dge.gob.pe/Boletin_sem/).

**CCPA,** 1998. *Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación* [en línea]. S.l.: s.n. [Consulta: 17 diciembre 2020]. ISBN 0919087310. Disponible en: <https://silo.tips/download/manual-sobre-el-cuidado-y-uso-de-los-animales-de-experimentacion>.

**ÇELIK, A; et al.,** 2018. Uso de animales en la investigación biomédica. *Journal of Materials Processing Technology* [en línea], vol. 1, no. 1, pp. 1-8. ISSN 09240136. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cirp.2016.06.001><http://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2016.12.055><https://doi.org/10.1016/j.ijfatigue.2019.02.006><https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.04.024><https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.127252><http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2019.127252>

**DELWATTA, S.L; et al.,** 2018. Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of Sprague-Dawley rats at the Animal House, Faculty of Medicine, University of Colombo, Sri Lanka. *Animal Models and Experimental Medicine* [en línea], (United State of America) vol. 1, no. 4, pp. 250-254. ISSN 2576-2095. DOI 10.1002/ame2.12041. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6388088/>.

**FERNANDES, D.P; et al.**, 2018. Hematological and biochemical profile of BALB/c nude and C57BL/6 SCID female mice after ovarian xenograft. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* [en línea], (United State of America) vol. 90, no. 4, pp. 3941-3948. ISSN 16782690. DOI 10.1590/0001-3765201820180586. Disponible en: <https://www.scielo.br/pdf/aabc/2018nahead/0001-3765-aabc-201820180586.pdf>.

**FERNÁNDEZ HERNÁNDEZ, J. y HEUZE DE ICAZA, Y.M.**, 2007. EL PROGRAMA INTERNO PARA EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO EN LAS INSTITUCIONES BIOMÉDICAS DOCENTES, DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA E INDUSTRIA FARMACÉUTICA. *Acta bioethica*, vol. 13, no. 1. ISSN 0717-5906. DOI 10.4067/s1726-569x2007000100003.

**FUENTES-PAREDES, F; et al.**, 2010a. *Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio : Ratón* [en línea]. S.l.: s.n. [Consulta: 7 octubre 2020]. ISBN 9789972857690. Disponible en: [www.ins.gob.pe](http://www.ins.gob.pe).

**FUENTES-PAREDES, F; et al.**, 2010b. *Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio : Ratón* [en línea]. S.l.: s.n. [Consulta: 27 octubre 2020]. ISBN 9789972857690. Disponible en: [www.ins.gob.pe](http://www.ins.gob.pe).

**FUENTES, F; et al.**, 2008. *Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio:Raton* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 9789972857690. Disponible en: [www.ins.gob.pe/insvirtual/images/.../GUIA\\_ANIMALES\\_RATON.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/.../GUIA_ANIMALES_RATON.pdf).

**GONZÁLEZ, W. y MORA, A.**, 2002. Satelitismo plaquetario: reporte de un caso. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera* [en línea], vol. 37, no. 1-2, pp. 41-45. [Consulta: 25 agosto 2021]. ISSN 1017-8546. Disponible en: [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85462002000100007](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462002000100007).

**GREEN, P.T.**, 1950. Red cell indices. *Manitoba medical review* [en línea], (United State of America) vol. 30, no. 6, pp. 371-372. [Consulta: 29 julio 2021]. ISSN 00252255. DOI 10.5005/jp/books/12973\_23. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK260/>.

**GUIMARÃES, M.V; et al.**, 2016. Utilización de animales en la investigación: breve revisión de la legislación en Brasil. *Rev. bioét. (Impr.)* [en línea], vol. 24, no. 2, pp. 217-241. [Consulta: 27 octubre 2020]. DOI 10.1590/1983-80422016242121. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-80422016242121>.

**HOGAN, M.C; et al.,** 2020. Environmental Factors: Macroenvironment versus Microenvironment. *Management of Animal Care and Use Programs in Research, Education, and Testing* [en línea]. (United State of America) S.l.: CRC Press, pp. 461-478. [Consulta: 16 diciembre 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500431/>.

**IGBOKWE, C.O; et al.,** 2017. Haematological and serum biochemistry profile of the juvenile wild African giant rat (*Cricetomys gambianus*, Waterhouse – 1840) in Nsukka, South-Eastern Nigeria – a preliminary investigation. *Journal of Applied Animal Research* [en línea], (United State of America) vol. 45, no. 1, pp. 190-194. [Consulta: 7 octubre 2020]. ISSN 09741844. DOI 10.1080/09712119.2016.1141772. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09712119.2016.1141772>.

**INC,** 2019. Definición de COVID-19 - Diccionario de cáncer del NCI - Instituto Nacional del Cáncer. [en línea]. [Consulta: 14 septiembre 2021]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/xenoinjerto-derivado-de-paciente>.

**KHAMAEAL AL-DULAIMI; et al.,** 2018. Clasificación de los tipos de glóbulos blancos a partir de imágenes de microscopio: técnicas y desafíos. [en línea]. [Consulta: 5 agosto 2021]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/327931984\\_Classification\\_of\\_White\\_Blood\\_Cell\\_Types\\_from\\_Microscope\\_ImagesTechniques\\_and\\_Challenges](https://www.researchgate.net/publication/327931984_Classification_of_White_Blood_Cell_Types_from_Microscope_ImagesTechniques_and_Challenges).

**KOLAR, R.,** 2006. Animal experimentation. *Science and Engineering Ethics*. S.l.: s.n., (United State of America) pp. 111-122. DOI 10.1007/s11948-006-0011-1.

**LEON, C.,** 2017. ¿Qué es la colina y qué hace? [en línea]. S.l.: [Consulta: 14 septiembre 2021]. Disponible en: <http://ods.od.nih.gov/HealthInformation/RecursosEnEspañol.aspx>.

**LÓPEZ VÁSQUEZ, J.A.,** 2007. Pautas Básicas Para El Manejo De Animales De Experimentación En Investigación Biomédica. *Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud*, no. May, pp. 1-8.

**MALDONADO, J. y AQUINO, A.,** 2016. Experimentación con biomodelos animales en ciencias de la salud ( Experiments biomodels animals in health sciences ) Introducción Proceso de selección del biomodelo animal de. *Avances en Biomedicina* [en línea], vol. 5, no. 3, pp. 173-177. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3313/331349259008.pdf>.

**MASCHI, F.A.**, 2017. El efecto del enriquecimiento ambiental sobre la variabilidad de parámetros fisiológicos y conductuales en ratones de laboratorio. [en línea], pp. 202. Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/63094/Documento\\_completo\\_\\_.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/63094/Documento_completo__.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**MATTHIAS EBERL**, 2020. Neutrófilos | British Society for Immunology. *British Society for Immunology* [en línea], (United State of America) pp. 2. [Consulta: 10 agosto 2021]. Disponible en: <https://www.immunology.org/es/public-information/bitesized-immunology/cells/neutrófilos>.

**MAZÓN FIERRO, Á.A.**, 2011. “Determinación de Buenas Prácticas de Producción de ratones (*Mus musculus*) en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia”. [en línea], [Consulta: 16 diciembre 2020]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/739/1/56T00257.pdf>.

**MORTON, D; et al.**, 2009. Extracción de sangre 1. (España). S.l.:

**MRAD DE OSORIO, A.**, 2006. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. *Revista Colombiana de Bioética* [en línea], vol. 1, no. 1, pp. 163-183. [Consulta: 3 julio 2021]. ISSN 1900-6896. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1892/189217283010.pdf>.

**NATIONAL RESEARCH COUNCIL**, 2011. *GUIDE LABORATORY ANIMALS FOR THE CARE AND USE OF Eighth Edition Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals Institute for Laboratory Animal Research Division on Earth and Life Studies* [en línea]. (United State of America) S.l.: s.n. [Consulta: 8 octubre 2020]. ISBN 9780309154000. Disponible en: <http://www.nap.edu>.

**PARASURAMAN, S; et al.**, 2010a. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* [en línea], (United State of America) vol. 1, no. 2, pp. 87-93. [Consulta: 2 julio 2021]. ISSN 0976500X. DOI 10.4103/0976-500X.72350. Disponible en: [www.jpharmacol.com](http://www.jpharmacol.com).

**PARASURAMAN, S; et al.**, 2010b. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* [en línea], (United State of America) vol. 1, no. 2, pp. 87-93. [Consulta: 2 julio 2021]. ISSN 0976500X. DOI 10.4103/0976-500X.72350. Disponible en: [/pmc/articles/PMC3043327/](http://pmc/articles/PMC3043327/).

**PESSINI, P.G; et al.,** 2020. Hematological reference values and animal welfare parameters of BALB/C-FMABC ( *Mus musculus* ) inoculated with Ehrlich tumor kept in the vivarium at ABC Medical School. *Animal Models and Experimental Medicine* [en línea], (United State of America) vol. 3, no. 1, pp. 32-39. ISSN 2576-2095. DOI 10.1002/ame2.12099. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ame2.12099>.

**PRESIDENCIA, M.,** 2005. Real decreto 1201/2005. *Boe*, pp. 34367-34391.

**RODRÍGUEZ YUNTA, E.,** 2007. Ética De La Investigación En Modelos Animales De Enfermedades Humanas. *Acta bioethica*, vol. 13, no. 1, pp. 25-40. ISSN 1726-569X. DOI 10.4067/s1726-569x2007000100004.

**ROMERO-FERNANDEZ, W.; et al.,** 2016. *The 1, 2, 3 of laboratory animal experimentation* [en línea]. (United State of America) 1 abril 2016. S.l.: Instituto Nacional de Salud. [Consulta: 20 octubre 2020]. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S172646342016000200015&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172646342016000200015&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

**S.A.I.C, W.L.,** 2012. Proteínas Totales. *Wiener Laboratorios S.A.I.C*, pp. 1-9.

**SANTOS, WILSON; et al.,** 2017. View of Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. [en línea]. (United State of America) [Consulta: 11 noviembre 2019]. Disponible en: <http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/103850/114101>.

**SANTOS, E.W.; et al.,** 2016. Valores de referência hematológicos e bioquímicos para camundongos das linhagens C57BL/6, Swiss Webster e BALB/c. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, vol. 53, no. 2, pp. 138-145. ISSN 16784456. DOI 10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145.

**SUBCOMMITTEE ON LABORATORY ANIMAL NUTRITION, C y BOARD ON AGRICULTURE, N.R.C.,** 1995. *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*,. (United State of America) S.l.: s.n. ISBN 9780309051262.

**SUCKOW, M.; et al.,** 2001. *The laboratory mice: A Volume in The Laboratory Animal Pocket Reference Series* [en línea]. (United State of America)S.l.: s.n. [Consulta: 5 julio 2021]. ISBN 0849303222. Disponible en: [www.crcpress.com](http://www.crcpress.com).

**TAPIA, J.,** 2019. Determinación de valores de referencia en hemograma y química sanguínea en

caninos hembras en condiciones de altitud. [en línea], (United State of America) pp. 117.  
Disponibile en: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/14476>.

**TORRICO, Z.**, 2013. Universidad Mayor de San Andrés. , pp. 85- 87.

**ZÚÑIGA, E.; et al.**, 2002. Apoptosis de linfocitos asociada a enfermedades infecciosas.  
*Lymphocyte apoptosis associated to infections* [en línea], vol. 62, no. 2, pp. 189-196. [Consulta:  
25 agosto 2021]. ISSN 0025-7680. Disponibile en:  
<https://www.medicinabuenosaires.com/demo/revistas/vol62-02/2/apoptosis.htm>.

**ZUTPHEN L; et al.**, 2001. *Principles of Laboratory Animal Science Revised Edition, 1st Edition*.  
(United State of America) S.l.: s.n. ISBN 9780444506122.

## ANEXOS

### ANEXO A: CONDICIONES DEL BIOTERIO, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOCH

|  |  |  |
|--|--|--|
| <p>Ratones <i>Mus musculus</i><br/>Lecho: tamo</p>                                 | <p>Bioterio de la Carrera de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH (Macroambiente)</p> |  |
|   |                    |  |
| <p>Termostato Digital Robertshaw y Honeywell PRO 1000<br/>T: 22°C Hr: 65%</p>      | <p>Microambiente de los animales en experimentación</p>  | <p>Pesaje Ratón <i>Mus musculus</i></p>  |
|  |                   |  |

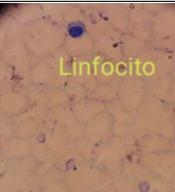
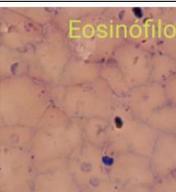
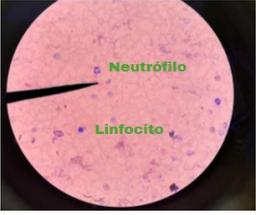
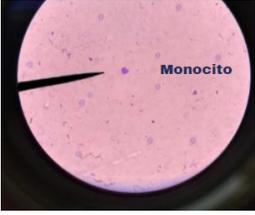
### ANEXO B: ANESTESIA Y EXTRACCIÓN DE MUESTRA

|   |   |  |   |
|---|---|--|---|
| <p>Inmovilización del biomodelo</p>   | <p>Punción intraperitoneal de anestesia</p>   | <p>Punción intracardiaca (toma de muestra)</p>                                       | <p>Recolección de muestra</p>   |
|  |  |  |  |

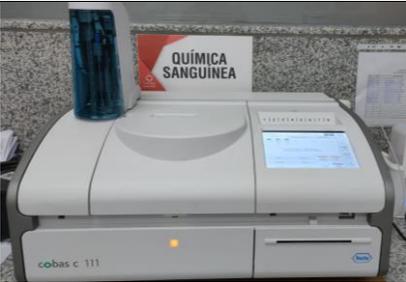
### ANEXO C: ANÁLISIS HEMATOLÓGICO

|   |   |  |   |
|---|---|--|---|
| Método manual (Frotis sanguíneo)  | Tinción Wright  | Método automatizado  | Equipo (Abaxis VetScan HM5)   |
|  |  |  |  |

### ANEXO D: RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS

| Células normales  |   |  |  |  |
|---|---|--|--|--|
| Neutrófilo  | Monocito  | Basófilo   | Linfocito  | Eosinófilo   |
|   |   |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

### ANEXO E: QUÍMICA SANGUÍNEA

|   |  |   |
|---|--|---|
| Análisis Automatizado (Cruz Roja)   | Equipo automatizado Cobas c111 (Química)   | Equipo semiautomatizado Rayto RT-1904C  |
|  |  |  |

# ANEXO F: ANÁLISIS ESTADÍSTICO-MINITAB.18

Minitab - Análisis F copia.MPJ

Archivo Editar Datos Calc Estadísticas Gráfica Editor Herramientas Ventana Ayuda Asistente

Project ...

Hoja de trabajo  
Hoja de trabajo 1  
Tabla

|    | C2-T    | C3   | C4   | C5   | C6   | C7  | C8  | C9   | C10   | C11   | C12   | C13   | C14   | C15 |
|----|---------|------|------|------|------|-----|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
|    | SEXO    | WBC  | LYM  | MON  | NEU  | EOS | BAS | RBC  | HGB   | HCT   | MCV   | MCH   | MCHC  | F   |
| 1  | Hembras | 4,70 | 3,30 | 0,24 | 1,20 |     |     | 8,70 | 1,80  | 47,60 | 54,70 | 18,20 | 33,20 | 15  |
| 2  | Hembras | 3,00 | 2,09 | 0,15 | 0,76 |     |     | 9,60 | 16,53 | 54,80 | 57,07 | 17,26 | 30,21 | 15  |
| 3  | Hembras | 3,16 | 2,20 | 0,16 | 0,81 |     |     | 9,84 | 16,10 | 57,80 | 58,70 | 16,40 | 27,90 | 15  |
| 4  | Hembras | 4,03 | 2,80 | 0,20 | 1,02 |     |     | 7,19 | 14,50 | 40,80 | 56,70 | 20,20 | 35,50 | 15  |
| 5  | Hembras | 3,74 | 2,60 | 0,19 | 0,95 |     |     | 7,93 | 14,70 | 46,90 | 59,10 | 18,50 | 31,30 | 15  |
| 6  | Hembras | 3,31 | 2,30 | 0,17 | 0,84 |     |     | 9,17 | 16,20 | 48,40 | 52,80 | 17,70 | 33,50 | 14  |
| 7  | Hembras | 5,03 | 3,50 | 0,25 | 1,28 |     |     | 6,77 | 16,60 | 38,40 | 56,70 | 24,50 | 43,20 | 15  |
| 8  | Hembras | 3,60 | 2,50 | 0,18 | 0,91 |     |     | 9,49 | 16,40 | 57,00 | 60,10 | 17,30 | 28,80 | 15  |
| 9  | Hembras | 3,26 | 2,27 | 0,16 | 0,83 |     |     | 9,49 | 16,15 | 52,89 | 55,62 | 17,08 | 30,83 | 10  |
| 10 | Hembras | 3,43 | 2,39 | 0,17 | 0,87 |     |     | 9,37 | 16,32 | 53,78 | 57,36 | 17,45 | 30,56 | 15  |
| 11 | Hembras | 3,65 | 2,54 | 0,18 | 0,93 |     |     | 8,71 | 15,55 | 51,95 | 59,60 | 17,90 | 30,05 | 15  |
| 12 | Hembras | 3,85 | 2,68 | 0,19 | 0,98 |     |     | 7,65 | 14,62 | 44,59 | 58,19 | 19,14 | 32,89 | 15  |
| 13 | Hembras | 4,60 | 3,20 | 0,23 | 1,17 |     |     | 8,62 | 15,50 | 48,80 | 56,60 | 18,00 | 31,80 | 15  |
| 14 | Hembras | 2,59 | 1,80 | 0,13 | 0,66 |     |     | 9,56 | 16,60 | 54,30 | 56,80 | 17,40 | 30,60 | 15  |
| 15 | Hembras | 5,46 | 3,80 | 0,27 | 1,39 |     |     | 7,71 | 15,60 | 44,30 | 57,50 | 20,20 | 35,20 | 15  |
| 16 | Hembras | 4,43 | 3,08 | 0,22 | 1,13 |     |     | 8,19 | 15,20 | 46,39 | 56,63 | 18,66 | 32,91 | 15  |
| 17 | Hembras | 5,36 | 3,73 | 0,27 | 1,36 |     |     | 7,27 | 16,07 | 41,54 | 57,13 | 22,21 | 38,94 | 15  |
| 18 | Machos  | 4,03 | 2,80 | 0,20 | 1,02 |     |     | 9,89 | 15,60 | 56,30 | 56,90 | 15,80 | 27,70 | 10  |
| 19 | Machos  | 1,73 | 1,20 | 0,09 | 0,44 |     |     | 9,30 | 16,40 | 55,40 | 59,60 | 17,60 | 29,60 | 15  |

Hoja de trabajo actual: Tabla

Archivo Editar Datos Calc Estadísticas Gráfica Editor Herramientas Ventana Ayuda Asistente

|     |         |    |       |       |       |        |
|-----|---------|----|-------|-------|-------|--------|
| PLT | Hembras | 20 | 856,0 | 384,0 | 325,0 | 1558,0 |
|     | Machos  | 20 | 687,0 | 267,4 | 155,0 | 1099,0 |

### Estadísticos descriptivos: GLUCOSA; COLESTEROL; ... ALES; ALBÚMINA

Estadísticas

| Variable          | SEXO    | N  | Media  | Desv.Est. | Mínimo | Máximo |
|-------------------|---------|----|--------|-----------|--------|--------|
| GLUCOSA           | Hembras | 20 | 112,4  | 50,0      | 171,5  | 391,5  |
|                   | Machos  | 20 | 124,4  | 58,7      | 178,1  | 405,4  |
| COLESTEROL        | Hembras | 20 | 105,79 | 27,52     | 64,27  | 166,40 |
|                   | Machos  | 20 | 165,1  | 68,7      | 83,4   | 372,3  |
| TRIGLICERIDOS     | Hembras | 20 | 116,40 | 44,20     | 55,88  | 210,90 |
|                   | Machos  | 20 | 147,49 | 27,12     | 105,32 | 194,20 |
| PROTEINAS TOTALES | Hembras | 20 | 5,150  | 0,3472    | 2,2000 | 6,5000 |
|                   | Machos  | 20 | 5,182  | 0,526     | 6,5000 | 9,0000 |
| ALBÚMINA          | Hembras | 20 | 2,168  | 0,457     | 2,210  | 4,250  |
|                   | Machos  | 20 | 2,257  | 0,669     | 1,950  | 4,590  |

### Resultados de SEXO = Hembras

Informe de resumen de GLUCOSA (SEXO = Hembras)

### Resultados de SEXO = Machos

Informe de resumen de GLUCOSA (SEXO = Machos)

Bienvenido a Minitab, presione F1 para obtener ayuda.

Minitab - Análisis R.MPJ [Solo lectura]

Archivo Editar Datos Calc Estadísticas Gráfica Editor Herramientas Ventana Ayuda Asistente

Project ...

Hoja de trabajo

- Hoja de trabajo 1
- Tabla
- Hoja de trabajo 4
- Hoja de trabajo 5
- Hoja de trabajo 6

Prueba de desviación estándar de 2 muestras para MCH por SEXO - Informe de resumen

### Prueba de desviación estándar de 2 muestras para MCH por SEXO

#### Informe de resumen

¿Difieren las desviaciones estándar?

0 0.05 0.1 > 0.5

Sí No  $P = 0.566$

La desviación estándar de Hembras no es significativamente diferente de Machos ( $p > 0.05$ ).

Gráfica de comparación de las desviaciones estándar  
Azul indica que no existe diferencia significativa.

Hembras:

Machos:

Distribución de los datos  
Compare la dispersión de las muestras.

Hembras

Machos

| Estadísticas         | Hembras        | Machos         |
|----------------------|----------------|----------------|
| Tamaño de la muestra | 20             | 20             |
| Media                | 18,730         | 15,589         |
| Desviación estándar  | 1,9095         | 2,6319         |
| IC individual de 95% | (1,087; 3,720) | (1,225; 6,269) |

Comentarios

- Prueba: No existe suficiente evidencia para concluir que las desviaciones estándar difieren en el nivel de significancia de 0,05.
- Gráfica de comparación: los intervalos azules indican que las desviaciones estándar no difieren significativamente.
- Distribución de los datos: Compare la dispersión de las muestras. Busque datos poco comunes antes de interpretar los resultados de la prueba.

muestras para HCT por SEXO

Informe

muestras en comparación con los otros puntos de la misma pueden tener una fuerte influencia sobre los resultados, naturaleza poco común. Estos puntos están marcados en colocar el cursor del ratón sobre un punto o utilizar la fijar la fila de la hoja de trabajo. Corrija cualquier error de par los datos que estén asociados con causas especiales y

muestras suficientemente grandes, la prueba funciona para datos no normales.

por lo menos 20, la exactitud del valor p no es un problema.

concluir que la desviación estándar de Hembras difiere de de las muestras son demasiado pequeños. De acuerdo con probabilidad de 90% de detectar una diferencia de 87,8%, muestras para detectar una diferencia que tenga e un valor para la diferencia.

Hoja de trabajo actual: Hoja de trabajo 1

13°C Muy nublado 18:40 14/9/2021



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL APRENDIZAJE  
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 26 / 10 / 2021

|  |
|--|
| <b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>   |
| <b>Nombres – Apellidos:</b> <i>Stephanie Alexandra Castro López</i>                  |
| <b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>   |
| <b>Facultad:</b> <i>Ciencias</i>   |
| <b>Carrera:</b> <i>Bioquímica y Farmacia</i>   |
| <b>Título a optar:</b> <i>Bioquímica Farmacéutica</i>                                |
| <b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i> |

**LEONARDO FABIO  
MEDINA NUSTE**

Firmado digitalmente por  
LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE  
Fecha: 2021.10.26 12:39:56 -05'00'



1965-DBRA-UTP-2021