



## Estudio preliminar de algunas variables de crecimiento y fertilidad en ratones de Bioterio

Romero Vidomlansky, P.R.; Vargas Schiro, F.L.; Rigoni, E.; Todaro, J.S.; Rigoni, R.G.; Aguirre, M.V.

Bioterio de la Facultad de Medicina-UNNE. Sarg. Cabral 2001, Ctes. Cap.  
Tel. +54 379 4439624. E-mail: [bioterio@med.unne.edu.ar](mailto:bioterio@med.unne.edu.ar)

### Resumen

En el presente trabajo se exponen los resultados obtenidos en el estudio comparativo del crecimiento y la fertilidad de ratones Balb/C y CF-1 del Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Nordeste, al modificar las condiciones ambientales de cría y reproducción de los animales previa y posteriormente al traslado del Centro a sus nuevas instalaciones. Las características estudiadas en ambas cepas fueron: número de crías, peso según sexo previo y posterior al destete, hasta la semana 15 de vida y tasa de fertilidad. Los resultados obtenidos muestran que el traslado causó estrés en ambas cepas murinas, cuyo efecto se manifestó en la disminución de las tasas de crecimiento y fertilidad en estos animales experimentales. Estos valores resultaron no significativos estadísticamente, lo que nos permite concluir que el enriquecimiento del hábitat en las nuevas instalaciones ayudó a paliar de alguna manera el estrés de la mudanza. Este es el primer estudio sistemático realizado a este efecto y sienta las bases de otros para el seguimiento de la adaptación y producción en las nuevas instalaciones.

**Palabras clave:** Bioterio, Curvas de crecimiento, Tasa de fertilidad, Adaptación, Estrés.

## Preliminary study of some growth and fertility variables of bioterium mice

**Abstract.** In the present work, the results obtained in the comparative study of the growth and fertility of Balb/C and CF-1 mice from the Bioterium of the Faculty of Medicine of the National University of the Northeast are exposed, by modifying the environmental conditions of breeding and reproduction of the animals before and after the moving of the Center to its new facilities. The characteristics studied in both strains were: breeding number, weight according to sex before and after weaning, until to the 15th week of life, and fertility rate. The results obtained show that the moving caused stress in both murine strains, and the effect was manifested in the decrease of growth and fertility rates observed in the animals. These values were not statistically significant, which allows us to conclude that the enrichment of the habitat in the new facilities helped to alleviate in some way the stress of the move. This is the first systematic study carried out for this purpose and lays the foundations for others for monitoring the adaptation and production in the new facilities.

**Key words:** Bioterium, Growth curve, Fertility rate, Adaptation, Stress.

### INTRODUCCIÓN

La experimentación con animales de laboratorio comprende un pilar fundamental en la investigación dentro de las áreas biomédicas, como una herramienta enfocada al descubrimiento de nuevas técnicas para prevenir, aliviar y curar enfermedades en el hombre y otras especies

animales, y desarrollar productos más inocuos para la sociedad (Navarro Hernández et al. 2012).

Dentro de los animales de laboratorio, el ratón es el más utilizado en investigación debido a su pequeño tamaño, vida relativamente corta y fácil adaptación al medio, y el amplio conocimiento de su anatomía, fisiología y genética (Ayala 2021).

En la actualidad, los ratones utilizados con fines científicos provienen principalmente de bioterios, los cuales se definen como recintos construidos y habilitados con los requisitos técnicos y equipamiento suficiente para criar, mantener y experimentar con animales, garantizar su bienestar y obtener datos válidos y reproducibles (Maschi y Rogers 2021).

Las nuevas instalaciones optimizadas del Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Nordeste (Bioterio Med-UNNE) fueron puestas en marcha en mayo de 2022 (Figura 1). De acuerdo a lo organizado previamente, unos días más tarde se trasladaron los animales en sus jaulas.

Las características y el periodo de adaptación a este traslado y al nuevo ambiente dependen de la adaptabilidad de los organismos al medio, y de sus interacciones. La adaptación comprende dos conceptos: 1) resistencia, la cual se relaciona con la tolerancia hacia ambientes extremos que tienen los organismos, tejidos o enzimas, y se correlaciona con los límites naturales de las especies, y 2) capacidad adaptativa, que permite la actividad normal en una escala ambiental alterada, pero tolerable. Ambos fenómenos permiten la supervivencia y reproducción en un medio alterado y se pueden estimar mediante pruebas de estrés (Saravia y Cruz 2003).

Entre las diferentes especies, e incluso entre los diferentes individuos de una especie, se presenta una considerable variación en su capacidad de ajuste al estrés ambiental. Los animales bien adaptados se caracterizan por a) pérdida mínima de peso durante la exposición a un estrés; b) alto índice reproductor; c) gran resistencia a enfermedades, y d) longevidad y bajo índice de mortalidad (Saravia y Cruz 2003).

En el Bioterio Med-UNNE se mantienen actualmente tres cepas murinas: ratones CF-1 y Balb/C y ratas Wistar. La línea Balb/c es una de las más conocidas y utilizadas en el mundo. Comenzó a utilizarse como cepa consanguínea en 1920, permitiendo resultados exactos y repetibles con poca cantidad de animales (De la Guardia y Frías 1991).

En cuanto a la cepa CF-1 proviene de una población de ratones albinos no suizos obtenidos en 1935 en Estados Unidos, endocriados durante 20 generaciones. En la generación 21 fueron reducidos a una sola pareja de la que descienden todos los animales CF-1 actuales (Chía et al. 2005).

El aumento de masa corporal de un animal ocurre en una secuencia temporal: prenatal, posnatal hasta el destete, destete hasta la pubertad y, pubertad hasta la madurez, donde cada fase presenta diferente velocidad o tasa de desarrollo. Datos provenientes de medidas longitudinales del peso corporal pueden ser relacionados con la edad para describir la curva de crecimiento (Posadas et al. 2011).

Las curvas de crecimiento en estos roedores muestran patrones característicos dependiente de la cepa, que pueden ser utilizados en el control de situaciones de salud de los animales, permitiendo reflejar el estado nutricional e identificar características del crecimiento de los mismos (acelerado, normal o lento) (Cossio-Bolaños 2013).

La hembra del ratón suele producir entre 10 a 12 crías por parto, aunque si cuenta con las condiciones necesarias tanto ambientales y de manejo podrá llegar a tener hasta 20 crías por camada. Sin embargo, a mayor número de crías, menor peso y tamaño de las mismas (Molina Páez 2020).

Adicionalmente, el bienestar y la supervivencia de los individuos se ven amenazados por cambios ambientales; para restablecer la homeostasis y lograr adaptarse, se ponen en marcha respuestas colectivas de estrés (Koscinczuk 2014).

A fin de optimizar la calidad y los resultados de las investigaciones que se realizan en distintos centros del NEA con las cepas criadas en el Bioterio de la Facultad de Medicina-UNNE (Bioterio Med-UNNE), se hace necesario realizar un monitoreo sistemático de sus características fisiológicas, y llevar a cabo la trazabilidad de los factores bióticos y abióticos (luz, temperatura, ruido, nutrición, comportamiento, entre otros) que influyen en su reproducción y crecimiento.

De acuerdo a lo anterior, el objetivo de este estudio ha sido evaluar el crecimiento y la tasa de fertilidad de las cepas Balb/c y CF-1 pertenecientes al Bioterio Med-UNNE, previa y posteriormente al traslado de los animales a las nuevas instalaciones.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional descriptivo del crecimiento de los ratones (*Mus musculus*) de las cepas Balb/c y CF-1 del Bioterio Med-UNNE, en el periodo comprendido entre febrero y agosto del año 2022, correspondiente a la mudanza de los núcleos fundacionales y reproductivos desde la Sede Central a las nuevas instalaciones optimizadas del Bioterio (Campus Sargento Cabral).

Para los procedimientos se contó con protocolos de pesaje, sexado y control de los animales avalados por Resolución N° 0009/21 del CICUAL Med-UNNE.

Los ratones se ubicaron en la Sala de Tratamiento 1 del Bioterio Med-UNNE, a aproximadamente 23°C durante todo el día, en jaulas de plástico reforzado (de 43 x 33 x 14 cm), con tapa de acero inoxidable con comedero y sitio para bebedero incorporados a la estructura de red, con cama de viruta de pino esterilizada, con recambio 2 veces por semana. Los animales fueron alimentados *ad libitum*, con extrusado para rata-ratón (ACA Nutrición Animal) cuyo valor nutricional se expone en Tabla 1. Se les suministró el agua de bebida en frascos esterilizados con reposición cada 48 h.

**Tabla 1:** Valor nutricional del alimento utilizado para el crecimiento de los animales del Bioterio de la Facultad de Medicina-UNNE.

Parámetro	Porcentaje (%)
Humedad (Máx)	12
Proteína bruta (Mín)	23
Extracto etéreo (Mín)	5
Fibra cruda (Máx)	6
Minerales totales (Máx)	10
Calcio (Mín - Máx)	1,0 - 1,4
Fósforo (Mín - Máx)	0,5 - 0,8
Cloro	0,3
Sodio	0,2
Potasio	0,7
Magnesio	0,2
Azufre	0,16

Un único técnico capacitado en la manipulación de animales registró el peso vivo desde el nacimiento de las crías (semana 0) hasta la semana 15 de desarrollo de los animales. Este registro se realizó semanalmente durante el horario matutino (7:00 am – 8:00 am) a través de una balanza de precisión marca Redwag modelo WTC-600, con aproximación a la centésima de gramo.

De la semana 0 hasta la 5 inclusive, se tomó el promedio de peso de las crías de cada madre. Luego del pesaje en la semana 5 se realizó el destete y sexado, separando los animales en estudio según cepa, camada y sexo. La distribución se detalla en la Tabla 2.

**Tabla 2:** Distribución de animales según cepa, camada y sexo a partir de la semana 5 de la experiencia.

Cepa	Nº total	Cantidad de ratones/camada	Nº de animales	Jaula
Balb/c	19	4	2 (machos)	B1m
			2 (hembras)	B1h
		4	3 (machos)	B2m
			1 (hembras)	B2h
		10	4 (machos)	B3m
			6 (hembras)	B3h
CF-1	24	12	7 (machos)	C1m
			5 (hembras)	C1h
		12	7 (machos)	C2m
			5 (hembras)	C2h

El análisis descriptivo observacional determinó el peso promedio y la desviación estándar para cada valor y se obtuvieron las primeras curvas de crecimiento “antes del destete”. A partir de la semana 5 y hasta el final del periodo de control se midió el peso por animal individualmente.

Paralelamente, se calculó la Tasa de Fertilidad para cada cepa. Se tomó un periodo de 6 meses desde la mudanza del Bioterio a las nuevas instalaciones mejoradas, comparando estos valores con los registrados durante 6 meses del año 2021, según la fórmula: número de crías/apareo.

Los apareos de la cepa CF-1 se realizaron en sistema 2 x 1 (2 hembras/1 macho), en cambio los Balb/c en sistema 1 x 1 (1 macho/1 hembra), durante todo el tiempo estudiado, según prácticas optimizadas en el Bioterio.

Los datos fueron recabados manualmente y luego trasladados a hojas de cálculo de Excel (Microsoft 2013). El análisis estadístico se realizó con el soft GraphPad Prism 9. Para constatar la calidad de los registros tomados durante el experimento, se realizó un ANOVA (análisis de varianza de una vía) para determinar si existen efectos significativos sobre las variables.

Asimismo, con el objeto de determinar cuál de los lugares podría presentar una diferencia significativa entre las medias de las variables de estudio se utilizó la prueba Tukey, con un nivel de confianza del 95%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Curvas de crecimiento.** El seguimiento del peso de los animales de la cepa CF-1 desde el nacimiento hasta la

semana 5 de vida reveló que el peso promedio al nacer fue de 1,5 g y el aumento se produjo a razón de aproximadamente 2 g por semana, a excepción de la semana 5, en la que se registró un fuerte aumento de peso.

Para la misma cepa posterior al destete, durante las semanas 6 a 15 de vida, el peso en machos fue mayor al de las hembras, siendo esta diferencia aproximadamente de 5 gramos, menor a la presentada en la literatura (Envigo 2008). Se observó un aumento de peso cercano a 0,80 g por semana en machos y 0,65 g en hembras. El aumento registrado a lo largo de todo el periodo fue de  $11 \pm 1,18$  y  $6,4 \pm 0,96$  g inferior al peso de los machos y hembras respectivamente reportado (Envigo 2008) en ratones CF-1 criados con la dieta Teklad Global Rodent Diet 2018S con un 18% de proteínas.

Por su parte, para la cepa Balb/C se registró un peso promedio al nacer de 1,63 g, siendo ligeramente mayor al informado en la bibliografía (Sánchez Treto 1995). Este peso se encuentra dentro del rango de normalidad de 1-2 g al nacimiento de esta cepa según la ficha técnica provista por el National Laboratory Animal Center (National Laboratory Animal Center-Mahidol University). Entre la semana 0 y la semana 1 de vida se produjo un marcado aumento de peso (4,7 g) que se estabilizó entre la semana 1 y 3 (aumento de aproximadamente 2 g), volviendo a registrarse un aumento mayor (4,35 g) entre las semanas 4 y 5.



**Figura 1.** Imágenes de las instalaciones mejoradas del Bioterio Med-UNNE. Ingreso y sala de producción de animales.

Posterior al destete, entre las semanas 6 a 15 de vida los datos recabados de la cepa Balb/c revelaron que el peso de los machos se mantuvo por encima del de las hembras durante todo el periodo, siendo en promedio 5,2 g mayor, menor a la diferencia de peso promedio según sexo presentada por la literatura (Envigo 2008). Se observó un aumento promedio de 0,82 y 0,42 g por semana para los machos y las hembras respectivamente. Por último, el peso promedio registrado a lo largo de todo el trayecto, fue 1,1 y 1,6 g menor en machos y hembras respectivamente en referencia a la curva tomada como control (Envigo 2008).

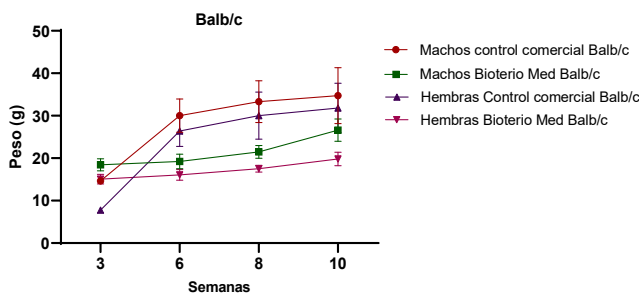
Los resultados mostraron que a partir de la semana 10, los ratones obtuvieron el peso suficiente para ser considerados adultos, y aptos para su uso en los estudios requeridos.

El peso alcanzado tanto por la cepa CF-1 como la Balb/c del Bioterio Med-UNNE es ligeramente menor al esperado para la cepa, estableciendo como patrón de calidad a las curvas de crecimiento provistas por los grandes laboratorios que crían, mantienen y comercializan esta cepa a nivel mundial (Sánchez Treto 1995, National Laboratory Center-Mahidol University 2008).

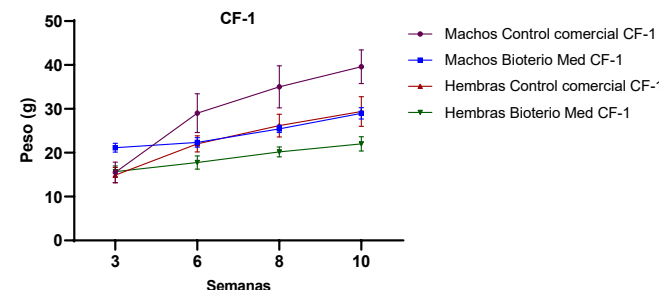
En las Figuras 2 y 3 puede observarse que no existen diferencias significativas entre las series de valores, tanto para la cepa Balb/c como para la CF-1. Esto puede deberse, al decir de Kunz (2004), a que en las nuevas instalaciones

los animales se encuentran en sitios más controlados evitando el gasto energético por factores ambientales, logrando así destinar la energía restante a los procesos de recuperación del estrés.

Los pesos corporales medios de ambas cepas tanto para los valores de animales del control y los del Bioterio Med-UNNE se fueron modificando en el tiempo de desarrollo de los animales, con efectos no significativos a las diferencias de alojamiento en las instalaciones enriquecidas. Algunos estudios previos han informado que los ratones enriquecidos, es decir, animales de laboratorios que cambian sus hábitats, que tenían pesos corporales o pesos de los órganos significativamente más pesados o más ligeros en valores medios en comparación con los animales no enriquecidos (Thiessen et al. 1962, Peters y Festing 1990). Esta variación en los resultados sugiere que los efectos del enriquecimiento pueden verse influidos por el tipo de enriquecimiento, la duración de los experimentos y el sexo y la raza de los animales examinados.



**Figura 2.** Comparación de las curvas de crecimiento de la cepa CF-1. Bioterio Med-UNNE versus cepa control



**Figura 3.** Comparación de las curvas de crecimiento de la cepa CF-1. Bioterio Med-UNNE versus cepa control

**Cálculo de tasa de fertilidad.** Los datos recabados correspondientes a la tasa de fertilidad según cepa, de dos periodos de 6 meses, uno anterior a la mudanza y otro posterior, se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3:** Tasa de fertilidad por cepa durante 6 meses previos y posteriores al cambio de ambiente en el Bioterio Med-UNNE.

Cepa	Apareos	Crías	Tasa de fertilidad
<i>Periodo mayo-septiembre 2021</i>			
CF-1	40	428	10,7
Balb/c	28	130	4,6
<i>Periodo mayo-septiembre 2022</i>			
CF-1	28	255	9,1
Balb/c	18	64	3,6

Los resultados confirman lo esperable con respecto a la adaptación de los animales a las nuevas condiciones del ambiente (en donde las condiciones de ruido, control de olores, temperatura y humedad fueron mejorados), ya que la tasa de fertilidad disminuyó en ambas cepas. Esto concuerda con lo estudiado sobre el estrés causado por la modificación de las condiciones ambientales y la necesidad de los animales de adaptarse a las mismas (Saravia y Cruz 2003, Koscinczuk 2014).

Estos datos son de gran utilidad tanto para futuras investigaciones en murinos como para la toma de decisiones en lo que respecta a la crianza de los mismos en el establecimiento, a fin de mejorar la trazabilidad y las condiciones de trabajo.

En cuanto a la tasa de fertilidad, los resultados de este estudio indicaron que la misma disminuyó como era esperable, con el movimiento de la mudanza y el tiempo de adaptación de los animales a las condiciones del ambiente. Se requieren nuevos estudios para confirmar la relación de estas variables.

Paralelamente, este estudio sienta las bases de la importancia de un registro sistemático de las condiciones de cría y mantenimiento en el Bioterio de la Facultad de Medicina-UNNE, tendiente a la optimización de la calidad y bienestar de los animales experimentales.

**Agradecimientos.** Al Sistema Nacional de Bioterios por el otorgamiento del subsidio BFT-022 que permitió la instalación de equipamiento en las nuevas instalaciones, a la Facultad de Medicina-UNNE y al Rectorado de la Universidad Nacional del Nordeste, quienes aunaron sus esfuerzos para la construcción y optimización del nuevo Bioterio. Asimismo, a la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Facultad de Medicina UNNE que avaló el proyecto “Semillero de investigación: Modificaciones en el desarrollo y crecimiento de animales de experimentación a causa del cambio en las condiciones de alojamiento: estudio observacional y descriptivo”.

**REFERENCIAS**

1. Ayala MA. El Ratón como animal de experimentación. En: Ciencia y bienestar de los animales de laboratorio. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). 2021.
2. Chia R, Achilli F, Festing MFW, Fisher EMC. The origins and uses of mouse outbred stocks. *Nat Genet.* 2005; 37(11): 1181-6.
3. Cossio-Bolaños M, Campos RG, Vargas R, Tadeu R, Fogaça H, De Arruda M. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar *Nutr. Hosp.* 2013; 28(6): 2151-2156.
4. De La Guardia E, Frías M. Estudio preliminar de algunas características biológicas en dos sublíneas de ratones Balb/c. *Rev. Cub. Ciencias Vet.* 1991; 22(1): 47-54.
5. Envigo. Production Facility 206 [Internet]. Halsett, MI; 2008. Disponible en: <https://www.envigo.com/model/hsd-nsa-cf-1>.
6. Koscinczuk P. Ambiente, adaptación y estrés. *Rev. Vet.* 2014; 25(1): 67-76.
7. Kunz T, Orrel K. Energy cost of animal reproduction.

- Encyclopedia of Energy. Vol 5. Elsevier Inc. 2004.
8. Maschi FA, Rogers EC. Diseño y planificación de bioterios. En: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). 2021; pp. 46-59.
  9. Molina Páez EM. Comparación parámetros productivos y reproductivos a la especie *Mus musculus* del Bioparque la Reserva con la suplementación de tres dietas diferentes. 2020. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/1006>.
  10. National Laboratory Animal Center. Mahidol University. Balb/cMlac - Product Service [Internet]. Disponible en: <https://nlac-old.mahidol.ac.th/>.
  11. Navarro Hernández C, Ojeda R, Vélez V. Manual de Procedimientos Recomendables para la Investigación con Animales. Editorial SAMSARA. México. 2012.
  12. Peters A, Festing M. Population density and growth rate in laboratory mice. *Laboratory Animals*. 1990; 24: 273-279.
  13. Posadas O, Rosero RN, Rodríguez N, Costa AC. Estimación de parámetros de curvas de crecimiento de ganado Nellore criado en confinamiento. *Rev. MVZ Córdoba*. 2011; 16(3): 2701-2710.
  14. Sánchez Treto N, Pardo MLJ, Romo UT, Escofet RB, Vázquez GR, Valdés YH. Algunas características biológicas de ratones Balb/c del bioterio de la facultad de Ciencias Médicas de Ciego de Ávila. *Mediciego*. 1995; 1(1).
  15. Saravia C, Cruz G. Influencia del ambiente atmosférico en la adaptación y producción animal. *Fac. Agr. Nota técnica N° 50*. 2003; 36p. Uruguay.
  16. Thiessen DD, Zolman JF, Rodgers DA. Relation between adrenal weight, brain cholinesterase activity, and hole-in-wall behavior of mice under different living conditions. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 1962; 55(2): 186-190.

Asociación Cooperadora

## de la Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional del Nordeste

Personería Jurídica N° 647/92 y 912/00

Sargento Cabral 2139

3400 Corrientes, Argentina

La Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE fue constituida el 10 de diciembre del año 1991 como entidad de bien público, con el objeto de promover y coadyuvar las actividades científicas, educativas y culturales relacionadas con las Ciencias Veterinarias. En tal sentido, implementa acciones para colaborar con la enseñanza, extensión, actualización y difusión científica que realiza dicha casa de estudios.

### *Beneficios que brinda a sus asociados:*

- Fotocopias con descuentos especiales en la Fotocopiadora *Copias.com* que funciona dentro del predio de la Facultad de Ciencias Veterinarias.
- Descuentos para la adquisición de libros de distintas editoriales.
- Descuentos especiales en otros rubros.

Página Web [www.vet.unne.edu.ar](http://www.vet.unne.edu.ar) • E-mail: [cooperadora@vet.unne.edu.ar](mailto:cooperadora@vet.unne.edu.ar)

Tel. +54 (379) 4423317/4423507 interno 186