

300627
14
24



UNIVERSIDAD LA SALLE

Escuela de Química
Incorporada a la U.N.A.M.

**"DETERMINACION DE LAS CURVAS DE
CRECIMIENTO PARA LOS ANIMALES
DE LABORATORIO MAS COMUNES"**

Tesis Profesional

*Que para obtener el Título de
Químico Farmacéutico Biólogo*

p r e s e n t a

Evangelina Gutiérrez Montero

México, D. F.

1987



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E .

INDICE POR TEMAS.

Capítulo I: INTRODUCCION	1
Capítulo II: OBJETIVOS	3
Capítulo III: ANTECEDENTES Y GENERALIDADES	6
A) Antecedentes	6
B) Generalidades	9
I. Nutrición	9
I.A) Requerimientos nutricionales de los animales de laboratorio	11
I.B) Factores que afectan los requerimientos nutri- cionales de los animales de laboratorio	12
- factores genéticos	12
- etapas del ciclo de vida	13
- ambiente de crianza	14
- efectos de las estaciones del año	16
- stress inducido por la experimentación	16
- interacción de nutrientes	18
- adición de sustancias de prueba	19
I.C) Requerimientos nutricionales para el ratón ...	20
- protefna	20
- aminoácidos	21
- grasa y energía	22
- ácidos grasos esenciales	22
- fibra cruda y carbohidratos	23
- minerales	24
- vitaminas	27
- agua	28
I.D) Requerimientos nutricionales para la rata	29
- protefna	29
- carbohidratos	30
- grasa y ácidos grasos esenciales	30

- minerales	31
- vitaminas	32
I.E) Elaboración, conservación y manejo de dietas	
para animales de laboratorio	36
a) dietas de ingredientes naturales	37
b) dietas purificadas	37
c) dietas químicamente definidas	37
d) dietas de fórmula cerrada	38
e) dietas de fórmula abierta	38
- formulación de las dietas	39
- manufactura de las dietas	40
- forma física de las dietas	41
- almacenamiento de las dietas	42
- contaminantes biológicos	43
II. Condiciones Generales de los Bioterios o Sitios	
de Investigación	43
II.A) Factores físicos	45
1) diseño y manejo de un bioterio	45
2) diseño de las jaulas	48
3) agua	52
- mamilas con pipeteros	53
- sistemas de agua automáticos	54
4) alimento y cama de aserrín	55
5) transportación	57
6) factores ambientales	57
7) luz	61
8) ruido	62
9) personal	63
II.B) Factores químicos	65
1) gases contaminantes	67
2) insecticidas	69
3) drogas	69
4) limpiadores y deodorizantes	70
5) esterilizadores químicos	71
6) control	72

II.C) Factores Microbiológicos	72
Capítulo IV: PARTE EXPERIMENTAL	75
I. Material utilizado en el estudio	75
II. Métodos	76
a) Evaluación biológica	76
- descripción de la metodología	77
b) Evaluación estadística	82
- descripción de la metodología	83
- descripción de fórmulas y términos	84
Capítulo V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .	89
I. Resultados	89
- observaciones respecto a las condiciones del bioterio	90
- observaciones respecto al número de especíme- nes	135
II. Discusión de resultados	137
- nutricionales	137
- estadísticos	141
Capítulo VI: CONCLUSIONES	152
APENDICE A	154
APENDICE B	157
APENDICE C	164
BIBLIOGRAFIA	171

INDICE DE TABLAS.

TABLA NO. 1: Requerimientos nutricionales en la dieta para ratones	21
TABLA NO. 2: Concentraciones de minerales adecuadas en dietas para ratón	26
TABLA NO. 3: Concentraciones de vitaminas adecuadas en dietas para ratón	28
TABLA NO. 4: Requerimientos de protefna y aminoácidos en dietas para ratas	30
TABLA NO. 5: Requerimicntos de energía, grasa y ácidos grasos en las dietas para rata	31
TABLA NO. 6: Requerimientos minerales en las dietas pa ra rata	32
TABLA NO. 7: Requerimientos vitamínicos esenciales en dietas para rata	32
TABLA NO. 8: Comparación de los requerimientos nutri- cionales de ratas normales, gestantes y lactantes	36
TABLA NO. 9: Lista de algunos agentes químicos presen tes en el medio ambiente de los bioterios que alteran la respuesta biológica	66
TABLA NO. 10: Pesos obtenidos de la rata Wistar machos.	91
TABLA NO. 11: Pesos obtenidos de la rata Wistar hembras	99
TABLA NO. 12: Pesos obtenidos del ratón BALB machos ...	107
TABLA NO. 13: Pesos obtenidos del ratón BALB hembras ..	114
TABLA NO. 14: Pesos obtenidos del ratón CF1 machos	121
TABLA NO. 15: Pesos obtenidos del ratón CF1 hembras ...	128

INDICE DE GRAFICAS.

	Pág.
GRAFICA NO. 1: Gráfica de dispersión de la rata Wistar machos	94
GRAFICA NO. 2: Gráfica de medias del peso y <u>regre</u> <u>sión</u> lineal de la rata Wistar ma- chos	95
GRAFICA NO. 3: Gráfica de medias del peso y <u>regre</u> <u>sión</u> cuadrática de la rata Wistar machos	96
GRAFICA NO. 4: Gráfica de logaritmo de la media del peso y <u>regresión</u> lineal de la rata Wistar machos	97
GRAFICA NO. 5: Gráfica de logaritmo de la media del peso y <u>regresión</u> cuadrática de la rata Wistar machos	98
GRAFICA NO. 6: Gráfica de dispersión de la rata Wistar hembras	102
GRAFICA NO. 7: Gráfica de medias del peso y <u>regre</u> <u>sión</u> lineal de la rata Wistar hem- bras	103
GRAFICA NO. 8: Gráfica de medias del peso y <u>regre</u> <u>sión</u> cuadrática de la rata Wistar hembras	104
GRAFICA NO. 9: Gráfica de logaritmo de la media del peso y <u>regresión</u> lineal de la rata Wistar hembras	105
GRAFICA NO. 10: Gráfica de logaritmo de la media del peso y <u>regresión</u> cuadrática de la rata Wistar hembras	106
GRAFICA NO. 11: Gráfica de dispersión del ratón BALB machos	109
GRAFICA NO. 12: Gráfica de medias del peso y <u>regre</u> <u>sión</u> lineal del ratón BALB machos .	110

GRAFICA NO. 13:	Gráfica de medias del peso y regresión cuadrática del ratón BALB machos	111
GRAFICA NO. 14:	Gráfica de logaritmo de la media del peso y regresión lineal del ratón BALB machos	112
GRAFICA NO. 15:	Gráfica de logaritmo de la media del peso y regresión cuadrática del ratón BALB machos	113
GRAFICA NO. 16:	Gráfica de dispersión del ratón BALB hembras	116
GRAFICA NO. 17:	Gráfica de medias del peso y regresión lineal del ratón BALB hembras	117
GRAFICA NO. 18:	Gráfica de medias del peso y regresión cuadrática del ratón BALB hembras	118
GRAFICA NO. 19:	Gráfica de logaritmo de la media del peso y regresión lineal del ratón BALB hembras	119
GRAFICA NO. 20:	Gráfica de logaritmo de la media del peso y regresión cuadrática del ratón BALB hembras	120
GRAFICA NO. 21:	Gráfica de dispersión del ratón CF1 machos	123
GRAFICA NO. 22:	Gráfica de medias del peso y regresión lineal del ratón CF1 machos ..	124
GRAFICA NO. 23:	Gráfica de medias del peso y regresión cuadrática del ratón CF1 machos	125
GRAFICA NO. 24:	Gráfica de logaritmo de la media del peso y regresión lineal del ratón CF1 machos	126
GRAFICA NO. 25:	Gráfica de logaritmo de la media del peso y regresión cuadrática del ratón CF1 hembras	127

GRAFICA NO. 26: Gráfica de dispersión del ratón CF1 hembras	130
GRAFICA NO. 27: Gráfica de medias del peso y <u>regre</u> <u>sión</u> lineal del ratón CF1 hembras .	131
GRAFICA NO. 28: Gráfica de medias del peso y <u>regre</u> <u>sión</u> cuadrática del ratón CF1 hem bras	132
GRAFICA NO. 29: Gráfica de logaritmo de la media del peso y <u>regresión</u> lineal del ratón CF1 hembras	133
GRAFICA NO. 30: Gráfica de logaritmo de la media del peso y <u>regresión</u> cuadrática del ratón CF1 hembras	134

INDICE DE APENDICES.

APENDICE A: Análisis de residuales para las regresiones lineal y cuadrática	154
APENDICE B: Aproximación a una recta por mínimos cuadrados	157
APENDICE C: Aproximación a una parábola de mínimos cuadrados	164

CAPITULO I:

INTRODUCCION.

I N T R O D U C C I O N .

Resulta de suma importancia que quien se dedique a la investigación y utilice reactivos biológicos, se pa acerca del comportamiento de los animales desde la lactancia hasta su edad madura con el fin de lograr resultados más reales y representativos para cada estudio.

En el crecimiento de un animal intervienen una serie de factores ambientales como son: estado de salud de la madre, cuidados que ésta le procure, calidad y cantidad del alimento y agua que consume, períodos de luz, temperatura y calidad de los cuidados que le proporciona la persona a cargo de la colonia.

Una forma sencilla de evaluar las condiciones generales de salud de una colonia es mediante la determinación de la curva de crecimiento tipo promedio. En nuestro país no existe, hasta la fecha, ningún estudio publicado acerca de las curvas de crecimiento de animales de laboratorio ni estudios que describan el comportamiento de estos animales durante su desarrollo. Es difícil para los investigadores correla -

cionar el peso con la edad de los reactivos biológicos que deben usar, ya que en la bibliografía se explica que tales elementos deben contar con determinadas especificaciones de peso, pero no de edad o viceversa, por lo que la mayoría de las veces tienen que repetir una investigación dada. Además, las especificaciones que muchas veces solicitan corresponden a animales de otros países que no necesariamente coinciden con los desarrollados en el país.

Con el fin de permitir normar el criterio de los investigadores respecto a los reactivos biológicos se decidió la realización de este trabajo que por sus características es un estudio prospectivo, longitudinal, en el que se sigue la evolución de un número dado de especímenes a través del tiempo y que es fundamentalmente observacional y descriptivo.

Se considera que la realización de este trabajo es de interés para cualquier investigador ya que le proporciona una referencia del comportamiento de los animales en condiciones normales, de manera que les sirva como punto de partida para posteriores estudios.

CAPITULO II:

OBJETIVOS.

O B J E T I V O S .

Para la realización de este trabajo se planteó una meta esencial de la cual se desprendieron varios objetivos secundarios igualmente importantes.

El objetivo esencial de la investigación es de -
terminar las curvas de crecimiento tipo promedio de -
los animales de laboratorio más usados en la investi-
gación y la enseñanza como son la rata y el ratón, -
mediante la obtención de los pesos en gramos de di -
chos animales desde su nacimiento hasta la madurez.

De lo anterior se desprenden una serie de objeti
vos secundarios que se pueden resumir de la siguiente
manera:

- a) Determinar las condiciones favo-
rables y desfavorables del biote
rio que tienen influencia direc-
ta o indirectamente en el creci-
miento normal de los animales -
dentro de su cautiverio, tanto -
en lo que se refiere al medio am
biente que los rodea, como al -

manejo por parte del personal y -
de los investigadores que traba -
jan con ellos.

b) Observar las diferencias de com -
portamiento, crecimiento y sobre -
vivencia de las diferentes cepas
de rata y de ratón con que se -
trabajó.

c) Interpretar los datos obtenidos -
de acuerdo con las gráficas reali -
zadas para tales efectos.

d) Determinar el modelo matemático -
que más se ajuste al comportamien -
to mostrado por los animales a lo
largo del experimento, y estable -
cer una justificación del por qué
de la elección de dicho modelo.

e) Publicar los resultados para que
toda la comunidad que en algún mo -
mento requiera de este tipo de -

reactivos biológicos logre estandarizar en este punto sus experimentos.

CAPITULO III:

ANTECEDENTES

Y

GENERALIDADES.

A N T E C E D E N T E S .

Los animales de laboratorio, principalmente la rata y el ratón, fueron utilizados en un principio como animales experimentales en algunos de los poquísimos - estudios sobre Nutrición que se efectuaron en Europa a mediados del siglo pasado. Su popularidad para estos - propósitos continuó aumentando cada vez más para los - estudios de Nutrición que se continuaron en Europa du- rante los siguientes cincuenta años. (26) (27)

Uno de los más notables estudios fue un intento - que se llevó a cabo en 1863 con el fin de medir la ca- lidad de las protefmas de las dietas que se proporcio- naban a las ratas. Se eligieron ratas debido a que son animales omnívoros capaces de alimentarse con cualquier clase de dieta, y cuyo metabolismo es muy similar al - del hombre; además resultan muy fáciles de manipular. Muchas de las ratas de este experimento murieron debi- do a que fueron alimentadas con una dieta a base de almidón de arrurruz o sagú de Jamaica, tapioca y lardo. Sin embargo, los que ingirieron una dieta a base de - carne con grasa y almidón sí sobrevivieron y experimen- taron cierto crecimiento.

En un intento de llevar a cabo estudios sobre el balance de nitrógeno, se midió el volumen y el contenido de nitrógeno de la orina, y se encontró que éste fue muy bajo en los animales alimentados únicamente con trigo, pero fue alto en aquellos alimentados con carne. (27)

Tal parece que la mayoría de los primeros investigadores que usaron animales de laboratorio en sus trabajos sobre nutrición, estuvieron muy interesados en las proteínas de las dietas relacionadas con el crecimiento de los animales.

La elección de la rata y el ratón como animales de experimentación toma un significado muy especial a medida que uno considera las muchas razones por las que estos dos tipos de roedores han tenido tanta preponderancia en todas las investigaciones posteriores. La principal razón no es, como comúnmente se piensa, el hecho de que la rata o el ratón sean un buen modelo para el hombre, sino el hecho de que estos animales crecen en una proporción de alrededor del 10% de su peso corporal por día, hasta llegar a su peso de la edad adulta que varía de acuerdo con la especie y el sexo. Esto resulta en una mayor distribución de las reservas

corporales de nutrientes, lo cual da mayor facilidad - de producir una gran variedad de deficiencias nutricionales. En cambio, un niño de 4 o 5 años de edad crece alrededor de 5 g/día, proporción que resulta despreciable si la comparamos con el tamaño corporal y el peso total de aproximadamente 20 Kg.

Y, aunque quizá los primeros investigadores no se percataron de este hecho, sí explotaron intensamente - todos estos principios. Los avances han hecho que los primeros experimentos de alimentación animal adquieran cada vez más complejidad y sofisticación, por lo que - se les da cada vez mayor énfasis bioquímico.

GENERALIDADES .

En este trabajo se tratarán dos aspectos de suma importancia que impactan definitivamente la calidad y el comportamiento de los animales utilizados en investigación:

- I. NUTRICION DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO.
- II. CONDICIONES GENERALES DE LOS BIOTERIOS O SITIOS DE INVESTIGACION.

I. NUTRICION.

La Nutrición involucra muchas actividades químicas y fisiológicas que transforman los elementos nutritivos en elementos corporales. (24)

Esta simple definición describe a la ciencia de la Nutrición como una disciplina basada en la Química, que interactúa en diferentes grados con muchas otras ciencias físicas y biológicas. Lo anterior implica a la Nutrición como uno de los factores ambientales que influyen en la capacidad de los animales de lograr su potencial genético para el crecimiento, reproducción, longevidad o respuesta al estímulo. Por ello, el esta

do nutricional de los animales involucrados en la investigación biomédica tiene un profundo efecto en la calidad de los resultados del experimento.

El proceso de proporcionar una nutrición adecuada a los animales de laboratorio incluye el establecimiento de requerimientos para aproximadamente 50 nutrientes esenciales, elaboración y manufactura de las dietas con las concentraciones de los nutrientes adecuadas, además de manejar numerosos factores relacionados con la calidad de la dieta, como son el aprovechamiento biológico de los nutrientes, palatabilidad y aceptación por parte de los animales, procedimientos que involucran la preparación y/o almacenamiento y la concentración química de los contaminantes, como es el caso de las nitrosaminas volátiles, las cuales han sido determinadas por cromatografía de gases. Se han detectado N-nitrosodimetilamina en muestras de alimentos extruidos (0.6 - 35.2 ppm), en alimentos de fórmula cerrada (1.9 - 45.1 ppm) y en alimentos extruidos de fórmula cerrada (0.2 - 21.3 ppm). Otras nitrosaminas que se han identificado pero con menor frecuencia son la N-nitrosodipropilamina, N-nitrosoetilmetilamina, y la N-nitrosopirrolidina. (35)

I.A) REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES: Una estimación de los requerimientos nutricionales de los animales de laboratorio se debe obtener antes de que una dieta nutricionalmente adecuada les sea proporcionada. Las estimaciones acerca de los requerimientos nutricionales se realizan por medio de experimentos en los cuales se determina el comportamiento de los animales alimenta - dos con diferentes dietas en donde la concentración de un nutriente específico es la única variable. Generalmente, las estimaciones de los requerimientos nutricio nales se basan en:

- 1) la composición nutricional de dietas que propor cionen un buen aprovechamiento;
- 2) los resultados derivados de estudios que no han sido designados para establecer requerimientos nutricionales, y
- 3) el asumir que los requerimientos nutricionales de roedores como rata y ratón son similares. (24)

Se han realizado experimentos con animales de la - boratorio a los cuales se les ofrecen diferentes die - tas extrufadas y se han encontrado diversos rangos o - porcentajes de palatabilidad, principalmente de la pro - tefna. Se les ha dado incluso alimento comercial para

bebé y se les ha restringido la ingesta de frutas. Se pudo observar que la dieta proporciona el 75% del total de la energía y el 95% del total de la proteína. El resto fue aportado por frutas y otros alimentos. (11)

El realizar experimentos de este tipo ha permitido observar una disminución de la mortalidad y un aumento de la fertilidad en los animales de laboratorio. Además no se apreciaron signos de deficiencias nutricionales. De esta forma resulta más sencillo determinar si los nutrientes de una dieta son adecuados o están por debajo de los requerimientos actuales.

I.B) FACTORES QUE AFECTAN LOS REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES:

a) Factores Genéticos: Definir los requerimientos nutricionales para los animales de laboratorio es un trabajo que implica mucho esfuerzo debido a la gran cantidad de colonias abiertas, cerradas, híbridas, sin genéticas y halogénicas que existen. Se ha observado que se presentan entre ellos diferencias en los requerimientos de proteína, riboflavina, ácido pantoténico, manganeso y cinc. (24)

Los aspectos bioquímicos y fisiológicos que respaldan la influencia de los factores genéticos no han

sido estudiados en detalle, pero se han publicado gran cantidad de datos que indican que el estado nutricional de al menos algunas colonias puede ser alterado por diferencias en las concentraciones de los nutrientes en las dietas.

b) Etapas del Ciclo de Vida: Los cambios en los requerimientos nutricionales asociados con el crecimiento, reproducción, mantenimiento o sustento y envejecimiento no han sido estudiados aún en detalle. Generalmente las dietas adecuadas para un máximo crecimiento han sido consideradas como apropiadas para una reproducción y sustento óptimos. No obstante, los datos sugieren que las dietas que producen un máximo crecimiento posterior al destete, no necesariamente permiten una máxima reproducción en las mismas cepas. Similarmente, los animales criados con dietas que promueven un máximo crecimiento o reproducción no fueron las más adecuadas para estudios de longevidad. Estos estudios indican que los requerimientos nutricionales de los animales de laboratorio cambian con las diferentes etapas de sus ciclos de vida. (24)

Para ello, en función de obtener los animales de mayor calidad para la investigación biomédica, es nece

sario seleccionar dietas para sus edades tempranas. Por ejemplo: ratones que son alimentados con dietas que generan un crecimiento muy rápido no son modelos ideales para la investigación gerontológica comparados con aquellos alimentados con dietas que presentan una menor velocidad de crecimiento. (24)

c) Ambiente de Crianza: Los requerimientos nutricionales de animales criados en ambientes libres de gérmenes o libres de patógenos específicos difieren de aquellos criados en medios ambientes convencionales. Se han suministrado dietas que contienen deficiencias graves en las concentraciones de todo el complejo B a ratas y ratones convencionales y a los libres de gérmenes y se reportó una menor reproducción en las cepas libres de gérmenes que en las convencionales. También hay evidencias de que los ambientes desprovistos de microorganismos afectan el aprovechamiento de algunos constituyentes dietéticos como por ejemplo el calcio, que se demostró que no se encuentra en concentraciones excesivas en los ratones convencionales, pero causa calcificación de los tejidos suaves en los ratones libres de gérmenes. (13) (24)

Existen estudios publicados en donde se habla de

la ingesta, energía metabólica y pérdidas por excreción en diferentes tipos de ratas Wistar machos adultos. Se observó que las ratas adultas libres de gérmenes excretaron 87% más calorías en las heces que las ratas convencionales, pero esta pérdida se vio compensada con un 18% más de ingesta. Como resultado, la utilización de energía de las ratas libres de gérmenes y de las ratas convencionales fue similar. (148 y 143 Kcal/día respectivamente); sin embargo, las ratas libres de gérmenes metabolizaron sólo el 71.9% de su ingesta, contra un 80% de las ratas convencionales. Las ratas libres de gérmenes consumieron 33% más de agua que las ratas convencionales, mientras que ambas excretaron aproximadamente el 33% de su ingesta de agua vía heces y orina. De cualquier forma, tanto las ratas como los ratones libres de gérmenes viven con buena salud. (44)

Por otra parte tenemos que los procesos de pasteurización y esterilización de las dietas influyen en la concentración de los nutrientes dietéticos. Como ejemplo tenemos que la pérdida de vitamina B asociada a dietas esterilizadas en autoclave durante 25 minutos a 121°C arroja los siguientes resultados:

tiamina	75-90% de pérdida
vitamina B ₆	17-35%

ácido pantoténico 33-47%

riboflavina 5-12% (24)

Por ello se hace necesario fortificar con vitaminas las dietas esterilizadas.

d) Efectos de las Estaciones del Año: Los efectos de las estaciones del año se hacen palpables tanto en el alimento como en los animales directamente. La mayor influencia la sufren los alimentos extruados que son manufacturados a bajas temperaturas y con baja humedad, ya que tienden a ser muy duros y su consumo por los animales pequeños resulta muy difícil y en ocasiones imposible. Por otra parte, los efectos de las estaciones en ratas y ratones mantenidos en ambientes bien controlados son mínimos y en la mayoría de los casos no tienen ningún significado práctico. (24)

e) Stress inducido por la experimentación: El nerviosismo producido por cualquier agente puede causar profundos efectos en los requerimientos dietéticos. En la mayoría de los casos puede ocasionar anorexia, lo cual origina que se tengan que emplear dietas con mejor palatabilidad o con concentraciones de nutrientes más elevadas. Cuando la cirugía altera órganos o siste

mas, generalmente es necesario hacer ajustes de la concentración de nutrientes de la dieta para compensar los cambios en las funciones del organismo. (13)(24)

Existen países en los que ya hay disposiciones gubernamentales para balancear o evitar el pánico y el stress de los animales durante la investigación, con el consiguiente beneficio que ésto reporta. Los investigadores deben estar preparados no sólo para reconocer cuando un animal tiene pánico, sino también para tasar la magnitud de dicho estado. Esto se hace en base a cinco variables independientes que se prueban para establecer la desviación del comportamiento normal:

- 1) peso corporal
- 2) apariencia
- 3) signos clínicos
- 4) comportamiento inesperado
- 5) respuesta al estímulo apropiado. (29)

Se evalúa cada variable y se clasifica de acuerdo a los siguientes grupos a cada animal:

- 1) normal
- 2) subnormal
- 3) moderadamente anormal
- 4) excesivamente anormal. (29)

En base a estos factores se determina la severidad

del pánico.

f) Interacción de nutrientes: Una concentración a normal de los nutrientes requeridos puede alterar la concentración requerida de otros nutrientes de muchas maneras. Incrementos de la concentración de grasa (energía), causan decremento en la cantidad que se consume del alimento debido a que la ingesta en los mamíferos es ampliamente dependiente de la satisfacción de los requerimientos energéticos. Cuando se requiere incrementar la concentración de grasa para algún experimento es bueno incrementar también la concentración de otros nutrientes para compensar la baja en la ingesta y evitar así las deficiencias potenciales. Las dietas con una concentración anormalmente elevada de un mineral pueden ocasionar deficiencias en otros minerales que están en concentraciones aparentemente requeridas dentro de la dieta. (24)

La absorción de algunos minerales ocurre dentro de un sistema común de transporte activo, en el cual las moléculas del mineral compiten en el intestino por los sitios de absorción. Un exceso en el número de moléculas de cualquier mineral resultará en la absorción de un menor número de moléculas de otros minerales de-

bido a una inhibición competitiva. Por otra parte, numerosos estudios han mostrado que diferentes variables como son las variaciones de composición de la dieta - normal, dietas diferentes, aditivos dietéticos y diferentes bebidas pueden causar severas manchas en los dientes de los especímenes de laboratorio. (15) (39)

g) Adición de Sustancias de Prueba: El hecho de administrar sustancias de prueba a la dieta para una evaluación toxicológica influencia directamente los requerimientos nutricionales. Los compuestos que se adicionan en altas concentraciones a la dieta decrecen la ingesta de nutrientes por dilución y algunos de los compuestos de prueba pueden ser antagonistas a nutrientes específicos, especialmente vitaminas. (24)

La concentración específica de nutrientes en una dieta para un solo animal o para una colonia completa depende de los objetivos del programa y de la serie de factores que afectan potencialmente los requerimientos nutricionales. (24)

A continuación se tratará el tema de los requerimientos nutricionales específicos tanto para el ratón como para la rata, que son los animales objeto de este estudio.

I.C) REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES PARA EL RATON.

a) Proteína: Se expresa su concentración como % de proteína cruda, valor que se determina por medición del contenido de nitrógeno en la dieta usualmente por el método de Kjeldahl, y se calcula el contenido de proteína sobre la base de que las proteínas contienen 16% de nitrógeno. Los errores asociados a este método ocurren debido al hecho de que no todo el nitrógeno en los alimentos proviene de las proteínas y hay una variación en el contenido de nitrógeno de las mismas.

Las dietas comerciales de ingredientes naturales con una concentración de proteína cruda del 20 al 25% resultan aprovechables.

Según numerosos estudios realizados acerca del tema, parece que una concentración del 12 al 14% de una proteína de buena calidad es adecuada para el crecimiento del ratón, mientras que una concentración del 17 al 19% es adecuada para la reproducción. Estos datos mostraron una variación considerable en los requerimientos aparentes de proteína dependiendo de la cepa y de la concentración de calorías en la dieta. (24)

b) Aminoácidos: Las concentraciones y proporciones de los aminoácidos esenciales determinan la calidad de

la protefna. Es decir, mientras más consistente sea la concentración de cada aminoácido en la protefna de la dieta con los actuales requerimientos, mayor será la calidad de la protefna. Por ello, la concentración de la protefna requerida es al menos en cierta proporción dependiente del perfil de aminoácidos de la protefna.

En las investigaciones se ha podido observar que los ratones no utilizan eficientemente los D-isómeros de varios aminoácidos; por ello, las concentraciones dietéticas de ellos para el ratón generalmente son referidas a los L-isómeros. En el caso de que se hagan mezclas de DL-isómeros, se deben hacer incrementos compensatorios en la concentración total de aminoácidos.

Los requerimientos estimados de aminoácidos en la dieta se muestran en la tabla no. 1.

Tabla No. 1: REQUERIMIENTOS DE AMINOACIDOS EN LA DIETA PARA RATONES. (24)

AMINOACIDO	REQUERIDO
Arginina	0.30
Histidina	0.2
Tirosina	0.12
Isoleucina	0.30
Leucina	0.45
Lisina	0.25
Metionina	0.40
Fenilalanina	0.35
Treonina	0.30
Triptofano	0.10
Valina	0.40

c) Grasa y Energía: El contenido de grasa de la mayoría de las dietas se expresa en términos de grasa cruda (también llamada extracto etéreo) que es la fracción soluble en éter de la dieta. En adición a la grasa, esta fracción contiene otros compuestos solubles en éter como vitaminas liposolubles y pigmentos de plantas. El porcentaje de grasa cruda en la dieta es siempre superior que el % de grasa verdadero.

Un determinado peso de grasa contiene aproximadamente 2.5 veces más energía que un peso igual de carbohidratos. Se ha determinado que las dietas que dan un buen crecimiento en ratones destetados proporcionan 14.5 Kcal de energía metabolizable por ratón por día.

Concentraciones de grasa de más del 5% en la dieta causan una disminución en la cantidad total de alimento consumido lo cual resulta en deficiencias de cualquier nutriente presente en concentraciones marginales. Por otra parte se ha observado que la concentración de grasa de la dieta tiene efectos sobre el comportamiento reproductivo de los animales, ya que genera obesidad.

d) Ácidos Grasos Esenciales: Los ratones requieren una fuente dietética de ácido linoleico y/o araquidónico.

nico. La deficiencia crónica de ácidos grasos esenciales involucra pérdida de pelo, dermatitis, costras en la piel y diarrea ocasional. Sin embargo, las concentraciones dietéticas de ácidos grasos esenciales en el ratón son controversiales. Se ha reportado que un 0.625% de ácido linoleico es adecuado para un ratón de tipo convencional; sin embargo los ratones libres de gérmenes requieren un 0.3% de ácido linoleico únicamente. (24)

e) Fibra Cruda y Carbohidratos: La fracción de fibra cruda de las dietas del ratón contiene carbohidratos complejos como celulosa y hemicelulosa. La fibra cruda afecta a la palatabilidad de la dieta, a la digestión, a la lactancia, a la biosíntesis intestinal microbiana y al consumo de otros nutrientes. Las dietas para ratón generalmente contienen 2.5% de fibra cruda.

La fracción de la dieta que contiene azúcares y almidones se llama extracto libre de nitrógeno y se calcula como la diferencia entre el 100% y los porcentajes totales de humedad, ceniza, proteína cruda, grasa cruda y fibra cruda. Este porcentaje generalmente es de 45 a 60 dependiendo de la concentración de otros

nutrientes. La concentración total de carbohidratos de la dieta es la suma de la fibra cruda y la fracción libre de nitrógeno. (24)

f) Minerales: El contenido total de minerales de la dieta se expresa como "ceniza" y consiste en el resi - duo que queda después de que una muestra de la dieta - se oxida completamente. La concentración individual de cada mineral no se identifica en la ceniza, pero éste es un indicador de la calidad de la dieta. Una dieta - de buena calidad elaborada con ingredientes naturales contiene 7-8.5% de ceniza, mientras que una dieta purificada contiene entre 3.5 y 4% de ceniza. No se han es - tablecido a ciencia cierta los requerimientos de mine - rales del ratón, pero en general las concentraciones - de minerales en los ingredientes naturales son considerablemente más altas que las requeridas por las espe - cies de animales de laboratorio.

Generalmente se incluyen concentraciones más al - tas de minerales en las dietas para compensar la menor disponibilidad biológica de las formas químicas de los minerales. Sin embargo, las diferentes proporciones entre ellos se deben controlar ya que el exceso de uno - puede inhibir la absorción normal de los otros. Sólo -

se han observado los síntomas de las deficiencias de -
algunos de los minerales:

- ∕ Deficiencia de yodo: causa aumento de la glándula tiroides y de la pituitaria con elevadas concentraciones de tirotropina en el suero.
- ∕ Deficiencia de calcio: disminución de peso, astillamiento de los huesos y presencia de calcio en el suero.
- ∕ Deficiencia de magnesio: causa convulsiones.
- ∕ Deficiencia de potasio: causa muerte por inanición.
- ∕ Deficiencia de cinc: causa pérdida de pelo en el cuello y tronco y decremento de la actividad hepática y renal.

A continuación se presenta una tabla que muestra las concentraciones adecuadas de minerales para el ratón.

Tabla No. 2: CONCENTRACIONES DE MINERALES ADECUADAS EN
DIETAS PARA RATON. (24)

MINERAL	DIETA PURIFICADA *	DIETA QUIMICA *	DIETA DE ING. NATURALES *
Calcio (%)	0.52	0.57	1.23
Cloruro (%)	0.16	1.03	--
Magnesio (%)	0.05	0.14	0.18
Fósforo (%)	0.40	0.57	0.99
Potasio (%)	0.36	0.40	0.85
Sodio (%)	0.10	0.38	0.36
Azufre (%)	--	0.0023	--
Cromo (mg/Kg)	2.00	4.00	--
Cobalto (mg/Kg)	--	0.20	0.70
Cobre (mg/Kg)	6.00	12.90	16.10
Fluoruro (mg/Kg)	--	2.30	--
Yoduro (mg/Kg)	0.20	3.80	1.90
Hierro (mg/Kg)	35.00	47.60	255.50
Manganeso (mg/Kg)	54.00	95.2	104.00
Molibdeno (mg/Kg)	--	1.55	--
Selenio (mg/Kg)	0.10	0.076	--
Vanadio (mg/Kg)	--	0.25	--
Cinc (mg/Kg)	30.00	38.00	50.30

*Dieta purificada: formulada con ingredientes refinados.

*Dieta química: elaborada con compuestos químicos puros.

*Dieta de ingredientes naturales: elaborada con granos enteros procesados y sustancias sujetas a cierta refinación.

Minerales como el bromo, cobalto, níquel, silicio y vanadio, que se requieren en mínimas cantidades (trazas) en las dietas de otros animales no tiene gran influencia en la dieta del ratón.

g) Vitaminas: Respecto a este nutriente es muy poca la información que se tiene. Se han determinado los requerimientos de vitaminas liposolubles (A, D y E), para ratones criados en medios ambientes convencionales. Los requerimientos de vitamina K se han determinado solo para ratones libres de patógenos o gérmenes, o bien para aquellos que han sido tratados con drogas antibacterianas. Existen indicios de que la vitamina K es sintetizada por los microorganismos intestinales de aquellos ratones criados en ambientes convencionales.

La información sobre los requerimientos de vitaminas hidrosolubles es limitada y se observan variaciones en los resultados debidas quizá a los diferentes métodos usados para establecer los requerimientos. Generalmente se usan métodos en los que se emplean medios ambientes en los cuales se puedan controlar los microorganismos intestinales de las colonias e igualmente prevenir la coprofagia.

En la tabla no. 3 se presentan las concentraciones vitamínicas adecuadas en las dietas de ratón.

Tabla No. 3: CONCENTRACIONES DE VITAMINAS ADECUADAS
EN DIETAS PARA RATON. (24)

VITAMINA	DIETA DE ING. NATURALES	DIETA PURIFICADA	DIETA QUIMICA
A (UI/Kg)	15000	4000	1730
D (UI/Kg)	5000	1000	171
E (UI/Kg)	37	50	1514
K ₁ (mg/Kg)	3	0.05	10.7
Biotina (mg/Kg)	0.2	0.2	1.0
Colina (mg/Kg)	2009	1000	2375
Acido Fólico (mg/Kg)	4	2	1.43
Inositol (mg/Kg)	----	----	238
Niacina (mg/Kg)	82	30	35.6
Pantotenato de Calcio (mg/Kg)	21	16	47.5
Riboflavina (mg/Kg)	8	6	7.1
Tiamina (mg/Kg)	17	6	4.8
Vitamina B ₆ (mg/Kg)	10	7	6.0
Vitamina B ₁₂ (mg/Kg)	0.03	0.01	0.58

Por lo que respecta al ácido ascórbico se ha mos-
trado que el ratón no requiere una fuente de esta vita-
mina en la dieta, por lo cual éstas no se fortifican -
generalmente con ácido ascórbico. (24)

h) Agua: Los ratones requieren de una fuente "ad -
libitum" de agua fresca y limpia. No se conocen exacta-
mente los requerimientos de agua para el ratón, pero -
se sabe que una restricción en la ingesta de agua re -
sulta en una disminución del consumo voluntario de ali-
mento.

El agua es una fuente potencial de microorganismos patógenos y de contaminantes químicos, sin embargo por otra parte, puede contener concentraciones suficientes de minerales para prevenir los signos clínicos de deficiencias cuando los ratones son alimentados con dietas que carecen de ciertos minerales. (24)

I.D) REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES PARA LA RATA.

a) Proteína: Un nivel del 20% de proteína proveniente de fuentes animales y vegetales es lo que generalmente resulta adecuado. La alimentación con niveles superiores de proteína (hasta del 50%), nulifica la eficiencia de la utilización de proteína y puede llegar a tener un efecto negativo en el desarrollo sexual de la hembra principalmente.

Por otra parte tenemos que ciertos aminoácidos pueden reemplazar a otros, por ejemplo: la necesidad de 0.90% de fenilalanina puede reducirse en una tercera parte si se reemplaza por L-tirosina. Similarmente, la L-cistina puede reemplazar la mitad del requerimiento de L-metionina. (3)

En la siguiente tabla podemos apreciar los requerimientos de proteínas y aminoácidos para la rata.

Tabla No. 4: REQUERIMIENTOS DE PROTEINA Y AMINOACIDOS
EN DIETAS PARA RATA. (3)

% de Proteína Cruda	20
% de Proteína Neta	12
% Neto de Aminoácidos	
L-triptofano	0.20
L-histidina	0.54
L-lisina	1.24
L-leucina	0.80
L-isoleucina	0.50
L-fenilalanina	0.90
L-metionina	1.00
L-treonina	0.50
L-valina	0.70
L-arginina	0.75
% de Aminoácidos no esenciales	4.87

b) Carbohidratos: No existe una necesidad específica por los carbohidratos, excepto su utilización como una fuente de energía. En dietas marginales, los carbohidratos complejos como el almidón y la dextrina promueven una mayor velocidad de crecimiento que los mono y disacáridos solubles. (3)

c) Grasa y Acidos Grasos Esenciales: La presencia de ácido linoleico y otros ácidos grasos insaturados es esencial en las dietas de las ratas sobre todo para los ciclos estrogénicos normales, para la prevención testicular y para favorecer la reproducción normal. (3)

En seguida se muestran los requerimientos de grasa y ácidos grasos para la rata.

Tabla No. 5: REQUERIMIENTOS DE ENERGIA, GRASA Y ACIDOS GRASOS EN LAS DIETAS PARA RATA. (3)

Energía cruda (Kcal/Kg)	4000
Energía metabolizable	3600
% de Grasa	5
% de Acidos Grasos Esenciales	0.3

d) Minerales: Los niveles de calcio y fósforo son los más importantes, sobre todo en el caso de la reproducción y la lactancia. Se ha observado que la relación calcio-fósforo es muy importante y debe ser en una proporción de 1:1 o 2:1 en el mejor de los casos.

Respecto a los demás minerales se hace referencia a ellos en la siguiente tabla.

Tabla No.6: REQUERIMIENTOS MINERALES EN LAS DIETAS PARA RATA. (3)

Minerales (mg/100g)	
Calcio	600
Fósforo	500
Sodio	500
Potasio	500
Cloro	25
Magnesio	50
Manganeso	3.3
Hierro	2.5
Cobre	0.5
Zinc	0.4
Yodo	0.015

e) Vitaminas: Los requerimientos de todas las vitaminas, excepto el ácido ascórbico, han sido bien determinados y se muestran en la siguiente tabla

Tabla No. 7: REQUERIMIENTOS VITAMINICOS ESENCIALES EN DIETAS PARA RATA. (3)

Vitamina A (UI/100g)	400
Vitamina D (UI/100g)	100
Alfatocoferol (mg/100)	3
Menadiona	0.1
Tiamina-HCl	0.4
Riboflavina	0.4
Piridoxina-HCl	0.6
Niacina	3
Pantotenato de calcio	1
Cloruro de colina(mg/100g)	80
Vitamina B ₁₂ (mcg/100g)	5

El saber que se pueden presentar síntomas de deficiencias es muy útil cuando el contenido de una vitamina en una dieta está por debajo de lo considerado como normal o bien cuando se preparan dietas para animales que poseen una flora intestinal limitada.

Cuando se esteriliza en autoclave una dieta extruída en forma de pequeños cilindros secos, aproximadamente el 40% de la vitamina A es destruída. Cuando la dieta se esteriliza en forma de masa húmeda, se incurre en una pérdida del 60%. Los requerimientos de vitamina D se relacionan con el metabolismo del calcio y del fósforo y si la dieta contiene cantidades adecuadas de estos minerales en una proporción correcta, se cuestiona si es necesaria la adición de vitamina D. Sin embargo el agregar 100 UI/100g de dieta permite un mayor rango de variación en el contenido de calcio y fósforo y por ello, un buen crecimiento y una adecuada calcificación. En cuanto a la vitamina E ésta puede desaparecer de la dieta por destrucción debido a la presencia de grasas rancias o por la presencia de sales metálicas.

Bajo circunstancias normales, la rata puede sintetizar en su tracto intestinal suficiente vitamina K para satisfacer sus necesidades. Sin embargo, las ratas

criadas en ambientes libres de microorganismos patógenos no presentan en su intestino bacterias capaces de sintetizar esta vitamina en cantidades adecuadas.

Por otra parte, las pérdidas de tiamina en las dietas que son esterilizadas con vapor pueden llegar al 80% e incluso exceder este porcentaje. Por ésto es recomendable incluir un ensayo de los niveles de tiamina como parte del programa de rutina del control de calidad de la dieta. Si bien resulta recomendable fortificar las dietas a esterilizar con tiamina adicional, es importante reducir las pérdidas en autoclave debido a que mucha de la tiamina se degrada a oxitiamina, una antivitamina. Respecto a la vitamina C o ácido ascórbico, tenemos que la rata no la requiere ya que es capaz de sintetizarla en su organismo. (3)

Un estado fisiológico muy importante de considerar en la rata es la gestación, ya que de ella y de los cuidados que se tenga con el animal durante ésta depende en gran parte la calidad y la buena salud de las crías.

Se han estimado las cantidades de alimento requeridas por ratas Wistar durante la gestación, la lactancia y en el período de post-lactancia. Diversos estudios

han demostrado que las ratas durante el embarazo consumen cantidades de alimento de alrededor de 20 g/día. Las crías nacen aproximadamente durante el día 22 o 23 del período de gestación, pero independientemente del día de parto, la ingesta de cada rata disminuye en el día 21 de embarazo, y baja una segunda vez en el día del parto. Ahora bien, durante la lactancia, la ingesta de alimento aumenta en una escala de 12.2 ± 3.1 gramos por rata sobre el promedio considerado entre 30 y 35 g/día. (34)

Una cualidad esencial de cualquier dieta es la de permitir la reproducción óptima y el adecuado desarrollo de la cría. Debe enfatizarse que los requerimientos mínimos de un nutriente se ven influenciados por las cantidades de los otros nutrientes de la dieta. Además en especies como la rata, en donde la lactancia y la gestación pueden suceder simultáneamente, el animal tiene demandas nutricionales muy severas.

Para ilustrar lo anterior, a continuación se presenta una tabla que compara los requerimientos nutricionales de la rata durante el embarazo, durante la lactancia y durante un período normal.

Tabla No. 8: COMPARACION DE LOS REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE RATAS NORMALES, GESTANTES Y LACTANTES. (3)

	N	G	L
Ingesta total de alimento (g)	13	19	33
Energía cruda (Kcal)	52	76	131
Energía metabolizable (Kcal)	47	68	118
Acidos grasos esenciales (mg)	trazas	20	80
Proteína cruda (g)	0.91	3.8	6.6
Proteína neta (g)	0.52	2.3	4.0

N = Rata Normal

G = Rata Gestante

L = Rata Lactante

I.E) ELABORACION, CONSERVACION Y MANEJO DE DIETAS PARA ANIMALES DE LABORATORIO: Finalmente queda por tratar el tema de procesamiento de las dietas.

Los nutrientes requeridos por los animales son proporcionados en diferentes tipos de dietas que generalmente se clasifican de acuerdo con el grado de refinamiento de los ingredientes y con la composición cuantitativa de dichos ingredientes. De acuerdo con esto se tienen diferentes tipos de dietas. Entre las más comunes se encuentran las siguientes:

a) Dietas de Ingredientes Naturales: elaboradas con granos enteros procesados como trigo, maíz o avena y sustancias sujetas a cierta refinación como harina de pescado o de soya y salvado de trigo. También se les llama "dietas de cereales", "dietas no refinadas" o "dietas no purificadas".

b) Dietas Purificadas: formuladas sólo con ingredientes refinados; como fuentes de proteína se usa caseína o la proteína aislada de la soya. El azúcar o almidón son fuentes de carbohidratos. Los aceites vegetales y las grasas animales son las fuentes de energía y ácidos grasos esenciales. La celulosa es fuente de fibra cruda y las sales inorgánicas y vitaminas purificadas son fuente de minerales y vitaminas respectivamente. Estas dietas también son llamadas "dietas semipurificadas", "dietas sintéticas o semisintéticas".

c) Dietas Químicamente Definidas: son las dietas elaboradas enteramente con compuestos químicos puros. Los ingredientes son aminoácidos, azúcares, triglicéridos, ácidos grasos esenciales, sales inorgánicas y vitaminas. Estas dietas son útiles en estudios donde se requiere un control estricto de la concentración de nutrientes específicos. Su desventaja es que los ingredientes tienen elevados costos y se requiere mucha ex-

perencia para formularlas.

d) Dietas de Fórmula Cerrada: son dietas manufacturadas y comercializadas por instituciones, quienes consideran información confidencial la composición de la dieta. Sólo se proporciona un análisis aproximado de la fórmula.

e) Dietas de Fórmula Abierta: son dietas elaboradas con una formulación de ingredientes cuantitativa y aprovechable inmediatamente. (24)

Las consideraciones hechas al seleccionar una dieta son las siguientes:

1) la clase y la composición de las dietas usadas en producción y experimentación animal está en función del mantenimiento de los animales en buen estado de salud de manera que se obtengan los resultados más consistentes posible. Todo depende de los objetivos que se quieran conseguir con una determinada colonia;

2) las dietas con ingredientes naturales son provechosas por ser económicas en su manufactura y presentan una buena palatabilidad y aceptabilidad. Por ello, son las más usadas en la alimentación de animales de laboratorio. Sin embargo, presentan las siguientes desventajas:

- variabilidad en composición de los ingredientes y - por consiguiente en la concentración de los nutrientes;
- dificultad para hacer cambios en la concentración de un ingrediente en particular debido a que cada ingrediente natural debe contener algún porcentaje de todos los 50 nutrientes requeridos;
- posible presencia de concentraciones residuales de pesticidas, metales pesados y otros agentes.

3) las dietas purificadas son más caras porque los costos de los ingredientes son más altos y su aceptación por ciertas colonias no es muy buena. Además nunca se han utilizado por espacios prolongados de tiempo ni se conoce su efecto sobre el comportamiento reproductivo de los animales. Por otra parte, la omisión de algún ingrediente resulta crítica por ser dicho ingrediente la única fuente de un determinado nutriente;

4) las dietas de fórmula abierta son excelentes para la evaluación e interpretación de resultados. Además, la composición de los ingredientes puede manipularse para alterar la concentración de un nutriente. (24)

Formulación de las Dietas: es el proceso de determinar las proporciones de varios de los ingredientes y los niveles de vitaminas y minerales que producirán -

que la dieta tenga una concentración adecuada de nutrientes. Los pasos a seguir en la formulación de una dieta son los siguientes:

a) establecer las concentraciones de nutrientes requeridas para la dieta. Deberán considerarse las pérdidas de nutrientes que pueden suceder durante el proceso de manufactura y almacenamiento (esterilización, temperatura, humedad),

b) seleccionar los ingredientes que se usarán en base a la composición nutricional; sin embargo esto se ve afectado por la disposición en el mercado, la palatabilidad y los contaminantes químicos o biológicos. Se debe procurar que haya más de un ingrediente como fuente primaria de un nutriente,

c) determinar la cantidad y proporción de cada uno de los ingredientes seleccionados requeridos para producir la dieta. La cantidad de cada nutriente se expresa como % en peso. (24)

Manufactura de la Dieta: La manufactura de las dietas involucra un proceso en el cual los ingredientes son convertidos en finas partículas, mezclados en las cantidades especificadas en la formulación, moldeados en una forma específica aceptable y empacados para su protección hasta que se usen. (24)

La manufactura eficiente de las dietas requiere - grandes capitales para equipos, instalaciones e ingredientes que finalmente resulten costeables al producirlos en grandes cantidades.

Las dietas se deben elaborar en sitios limpios libres de contaminantes químicos o biológicos.

Frecuentemente el paso final en la manufactura de la dieta incluye la incorporación en el laboratorio de una o varias sustancias de prueba en pequeñísimas cantidades principalmente para estudios crónicos. Sin embargo, en estos casos se presentan problemas como el hecho de que estas dietas resultan más caras y los productores imponen siempre un mínimo de lotes de producto para la venta, lo cual a veces no resulta costeable porque generalmente las sustancias de prueba se agregan en cantidades mínimas. Por otro lado muchas veces no se dan las facilidades para poder variar las cantidades de la sustancia de prueba, por lo que actualmente se están desarrollando extrusores especiales que proporcionan alimentos de igual calidad que los comerciales y que permiten la elaboración de este tipo de dietas a pequeña escala. (10)

Forma Física de las Dietas: las dietas pueden ser

en forma de extrudidos o de polvos y la selección de la forma se basa en los requerimientos de la investigación. Las más usadas son las dietas extrudidas ya que son fáciles de almacenar, de manejar y de proporcionar al animal.

Las dietas en forma de harinas son las más ineficientes ya que se desperdician mucho a menos que se usen comederos especiales. Una modificación a estas dietas es cuando se mezclan partes iguales de la harina o polvo y solución de agar al 3%, ya que se obtiene un gel fácil de cortar y de recuperar. El problema es que requieren de refrigeración por ser susceptibles al ataque de microorganismos. (12)

Almacenamiento de la Dieta: El alimento se debe almacenar en un área fría, seca y libre de microorganismos, en tarimas alejadas del suelo para protegerlos de la contaminación y asegurar la potencia de los nutrientes. (12)

En general no resulta económico almacenar las dietas de ingredientes naturales o las de ingredientes puros en grandes cantidades bajo refrigeración. Las primeras deben utilizarse dentro de los 90 días posteriores a su fabricación y las de ingredientes pu-

ros dentro de los 40 días siguientes a su fabricación. Una dieta almacenada por mucho tiempo es conveniente analizarla sobre todo en cuanto a la vitamina A y a la tiamina antes de su uso ya que éstos son compuestos lábiles que con el almacenamiento pueden sufrir degradación a otros compuestos.

Contaminantes Biológicos: La dieta es una fuente potencial de agentes biológicos que pueden ser patógenos. El grado y la clase de contaminantes depende de factores como son la clase de ingredientes utilizados, los programas sanitarios en las instalaciones de manufactura y la protección del producto final desde la manufactura hasta su uso. El mejor método de asegurarse contra los contaminantes biológicos es la esterilización en autoclave. (12) (24)

II. CONDICIONES GENERALES DE LOS BIOTERIOS O SITIOS DE INVESTIGACION.

La reproducibilidad de un experimento ha sido el axioma de la investigación científica desde la época

de Claude Bernard.

Los primeros investigadores que establecieron especies de laboratorio hicieron grandes esfuerzos hacia dicho objetivo por medio de prácticas innovadoras de u nión entre los animales, diseño adecuado de los bioterios, estandarización genética y control de posibles infecciones.

Subsecuentemente el progreso hacia el control de variables que afecten la respuesta biológica de los animales de laboratorio fue lento hasta los años 50's. Para esta época además de que las variables que afectan los experimentos eran ya bien conocidas, el incremento en la sofisticación de las técnicas y metodológica de investigación forzaron a una apreciación más realista de su impacto total sobre un experimento. Existió más presión de la comunidad científica para reducir los efectos o la presencia de enfermedades; se realizaron más avances en la aplicación de principios genéticos para la producción de animales a larga escala; se descubrieron las condiciones necesarias capaces de mantener a los animales libres de enfermedades y se llegó a una acumulación gradual de evidencias de que existen muchos otros factores ambientales que tienen una profunda influencia sobre la respuesta biológica. (2)

Todo ésto llevó a hacer de las especies de laboratorio un sujeto de investigación estandarizado. Es importante el concepto de que la respuesta biológica de los animales de laboratorio es una expresión de los múltiples efectos genéticos y ambientales a que son sujetos desde que son un embrión hasta la muerte. Aunque este concepto no es nuevo, sí reconoce la importancia de las interacciones entre los factores genéticos y ambientales.

A continuación se hablará de los factores físicos, químicos y microbiológicos más importantes que afectan el ambiente de un bioterio y que tienen impacto definitivo en las especies con que se trabaje.

II.A) FACTORES FÍSICOS.

1) Diseño y Manejo de un Bioterio: Este tema ha sido objeto de muchos congresos y publicaciones científicas a través de los años. Si las autoridades administrativas, el personal encargado del cuidado de los animales y los investigadores están concientes de la importancia que el medio ambiente juega en el manteni -

miento de la salud de los animales y en la integridad de una experimentación, la posibilidad de tener una colonia saludable está garantizada. (36)

Las áreas básicas de un bictorio son las siguientes:

- 1) Recepción de animales y cuartos de cuarentena de éstos.
- 2) Lavado y aseado de jaulas.
- 3) Preparación y almacenamiento de las dietas.
- 4) Suplemento de equipo y almacenamiento del mismo.
- 5) Depósitos de desechos.
- 6) Lugares específicos para el aseo personal.
- 7) Laboratorios especializados (cirugía, necropsia, diagnóstico de enfermedades infecciosas, etc.).
- 8) Oficinas administrativas. (2)

El arreglo adecuado de estas funciones optimizará el flujo interno y limitará la contaminación.

Las dimensiones de los cuartos serán suficientes para acomodar los estantes y las jaulas. Las áreas de albergue de animales estarán construídas de manera que permitan la fácil descontaminación y eviten la acumulación de desechos y microorganismos.

Si el tamaño del bioterio lo permite, se podrá incluir un departamento de ingeniería y mantenimiento, el cual aseguraría un alto nivel de mantenimiento preventivo y una sensibilidad inmediata para dar respuesta a los problemas que se puedan presentar.

La inspección periódica planeada y el mantenimiento de las construcciones y equipos son muy necesarios para prevenir interrupciones inesperadas del servicio o contaminación de las colonias. Los equipos de calentamiento, ventilación y aire acondicionado requieren una atención constante. También resulta importante tener siempre una reserva de refacciones que frecuentemente se requieren para reponer las descompuestas.

Es necesario poner atención en la seguridad de los bioterios ya que la exposición deliberada o por descuido de los animales a agentes tóxicos o infecciones ya sea por los visitantes, por el personal o por intrusos puede ocasionar graves pérdidas no sólo económicas sino también respecto al esfuerzo científico.

Un bioterio debe tener la capacidad de satisfacer las necesidades de los investigadores. En un bioterio donde el espacio es compartido por muchas personas, las cuales entran y salen a cualquier hora, se dificulta la seguridad, por lo cual debe controlarse la entrada. (4)

Lo más adecuado consiste en tener un área de recepción donde generalmente se encuentra un trabajador del bioterio que se encarga de registrar la entrada y salida de personas. De esta forma se emplearán más recursos en el mantenimiento de la seguridad, pero esto redundará en beneficios inmediatos tanto para el bioterio como para los investigadores. (4)

2) Diseño de las Jaulas: La jaula constituye el medio ambiente inmediato del animal, y éste difiere sustancialmente del ambiente del cuarto general.

Existen dos tipos básicos de jaulas para albergar a animales como la rata y el ratón: las de tapa sólida y las de tapa perforada o acanalada (generalmente hechas de alambre grueso). La forma generalmente llamada "caja de zapatos" es rectangular con paredes y suelo sólidos. Si se emplea metal se prefiere el acero inoxidable por su durabilidad y por ser inerte químicamente. Las jaulas de acero galvanizado son menos durables y pueden acarrear la ingestión de cinc en animales que acostumbra roer superficies, ya que pueden separar partículas metálicas de la recubierta exterior de la jaula en suelo o paredes.

Para la mayoría de las aplicaciones se prefieren

las jaulas de plástico sobre las de metal por su economía, por su construcción sencilla, por la durabilidad y por ser inertes químicamente. Los materiales como el policarbonato o el polipropileno son muy durables, y resistentes al impacto y al calor. Sin embargo, presentan el problema de ser un poco más susceptibles a la destrucción, lo cual genera, además de pérdidas de jaulas, el escape de los animales. Los roedores son capaces de clavar sus incisivos sobre los bordes de las jaulas hasta una profundidad de 0.5 cm, lo cual genera una destrucción total de las mismas. (19)

Existen otras jaulas hechas de poliestireno que son menos durables y que se emplean cuando una infección o algún agente químico peligroso hacen deseable el deshacerse de ellas.

La jaula está acompañada de una cubierta perforada de metal o alambre. En ocasiones las jaulas están en estantes de forma que los entrepaños forman a la vez las tapas de las jaulas inferiores a ellos. La cubierta o tapa debe colocarse de forma que evite el escape de los animales o bien el roer los filos de las jaulas.

La ventilación interna de la jaula está muy influenciada por el diseño de la tapa. Las tapas de alamb

bre proporcionan la mayor libertad de movimiento del aire, pero aún así pueden restringirlo en un 25%. Además estas tapas sirven para contener el alimento y la botella con el agua, de manera que restringen un poco más la ventilación. Otro método que se ha usado es el de cubiertas que filtran el paso del aire y evitan así la transmisión de microbios entre jaulas. Un tercer método que se ha usado es el de ventilación individual - presurizada que ha sido usado por The Jackson Laboratory desde 1967. En este método se alimenta aire individualmente a cada jaula por medio de un canal lateral y se extrae el aire viciado por medio de otros dos canales a los lados de la jaula. El sistema puede ser manejado por medio de una presión neutral, positiva o negativa. Este sistema reduce la contaminación cruzada, - provee una proporción más alta de intercambio de gases y reduce la concentración de amoníaco. (7) (25)

Las jaulas usualmente están colocadas en estantes con ruedas los cuales están provistos de entrepaños. La posición de la jaula en el estante y la posición de éste en el cuarto tienen gran influencia en la ventilación dentro de la jaula, en la temperatura y en la intensidad de la luz. Para eliminar esta variable o minimizar al máximo sus efectos se requiere la utilización

de métodos ya establecidos de rotación al azar aplicados a la colocación de la jaula en el estante.

Se han realizado análisis de la relación entre el nivel al cual se colocan las jaulas y el peso del animal, así como su consumo y desperdicio de alimento. Se ha observado que la ganancia de peso es menor en el nivel superior o en los niveles próximos al suelo que en los niveles intermedios. Por otra parte, se tiene que el consumo de alimento es mayor y el desperdicio es menor en los niveles intermedios que en los superiores o inferiores. (19) (32)

Un factor muy importante es la densidad de ocupantes en la jaula, la cual tiene efectos considerables en las características biológicas. Además tiene efectos determinantes sobre la reproducción, comportamiento y metabolismo. Por ello, actualmente se prueban nuevas jaulas que contienen divisiones de plástico en las que se pueden colocar hasta 4 animales "individualmente" con acceso "ad libitum" al agua y al alimento. Este método permite tener a los animales separados durante largos periodos de tiempo, si el experimento así lo requiere, sin necesidad de ocupar un número muy grande de jaulas y estantes. (18)

Por último, es importante tener en cuenta que pue

den suceder accidentes con las jaulas y pueden ser de tres categorías:

- a) aquellos asociados al diseño de la jaula,
- b) aquellos causados por un uso impropio del equipo,
- c) aquellos causados por desperfectos de las jaulas.

Los tres requieren de una observación constante - por parte del personal para permitir hacer las reparaciones y correcciones pertinentes. (6)(13)

3) Agua: El agua para beber varía demasiado de un bioterio a otro, no sólo en su cuenta microbiana, o en su contenido mineral, sino también en el tratamiento - del agua antes de darla a los animales. En los últimos años se ha ofrecido purificar el agua por ósmosis inversa, ultrafiltración, desionización o una combinación de los anteriores. Estos métodos son adicionales a los de hipercloración y acidificación usados para controlar la Pseudomona aeruginosa y otras bacterias.

En el método de acidificación el ácido más usado es el clorhídrico, el cual se añade hasta llegar a un pH de 2 a 3.

La hipercloración (8-20 ppm) de agua de beber de los roedores para controlar P. aeruginosa y otras bacterias gram negativas se ha usado desde hace mucho -

tiempo. En la cloración se usa el gas cloro o el hipoclorito de sodio. Otro agente que se ha usado es la tetraciclina debido a su facilidad de administración y a su amplio espectro antibacteriano. Sin embargo no resulta efectiva, ya que aunque se agregue en altas concentraciones al agua, aparece en mínima cantidad en el suero sanguíneo de los animales, por lo que no resulta efectiva en el control de enfermedades, además de que a algunos animales les hace perder peso. (30)

Los animales de laboratorio deben tener una fuente disponible de agua potable y una interrupción de ésta ocasiona serias consecuencias de deshidratación.

De los sistemas usados para proporcionar agua tenemos que los más comunes son:

a) Mamilas con pipetero: es necesario examinar la limpieza de las botellas y las defectuosas deben ser eliminadas. La pipeta es la pieza más difícil de limpiar dentro del equipo ya que los microorganismos forman una capa delgada en la pared interna que es muy difícil de remover por las técnicas de lavado comunes. Además no resulta recomendable emplear detergentes en el lavado. También se pueden esterilizar las botellas y los pipeteros, aunque ésto tampoco elimina completamente la suciedad ni a los microorganismos. (36)

b) Sistemas de agua automáticos: Proporcionan un suministro constante de agua a la vez que permiten ahorrar trabajo. No obstante, estos sistemas no deben ser ignorados por el trabajador del bioterio. Se deben checar las válvulas frecuentemente, si no es que diariamente, para asegurar que los animales están recibiendo agua y que no haya goteras. También es muy frecuente que en ciertos estudios se abra y cierre frecuentemente la jaula para observar a los animales, los cuales acostumbran tratar de escapar por la abertura de la válvula del agua cuando la jaula está abierta, y ésto puede causarles heridas o hasta la muerte al cerrar la jaula. Por ello se han diseñado cubiertas adheridas al estante de la jaula para evitar estos problemas. La desventaja de este método es que es muy caro y requiere tubería resistente a la corrosión. (31)

Una forma novedosa de proporcionar agua actualmente a los animales es por medio del hidrogel, el cual es fácil de manejar y está listo para ser consumido. Se ha observado que no ocasiona cambios histopatológicos en la microflora ni fisiológicos a los animales que se les ha suministrado durante periodos hasta de siete meses. La forma de darlos al animal es igual que los pellets de alimento. (41)

Para purificar el agua se acostumbra utilizar la ósmosis inversa, la desionización y la ultrafiltración, así como una combinación de estos métodos, lo cual produce agua muy pura, sin embargo, el agua se vuelve un medio de cultivo para los microorganismos al momento en que los animales dejan saliva o partículas de alimento en el pipetero. La adición de cloro al agua es buena cuando se utilizan mamilas. Cuando se emplean sistemas de circulación continuos, se hace necesario el paso de agua a través de filtros o de luz ultravioleta para controlar a los microorganismos.

Respecto a los análisis a que debe ser sometida el agua del bioterio tenemos que los más importantes son los siguientes:

- pH
- concentración de cloro
- análisis microbiológicos para coliformes y Pseudomonas aeruginosa. (36)

4) Alimento y Cama de Aserrín: Las áreas donde se almacenan el alimento y el aserrín deben controlarse para evitar la contaminación con insectos y roedores. También deben controlarse la temperatura, la humedad y la limpieza de estos sitios.

El alimento procesado, aún cuando es esterilizado puede contener huevecillos de insectos provenientes de los granos con que se fabrica o bien del proceso de manufactura. Si un área se contamina con insectos, debe ser vaciada totalmente, desinfestada y después de ésto puede volver a usarse. El uso de insecticidas en aerosol puede contaminar el alimento, por ello se recomienda mejor una inspección constante acompañada de una limpieza exhaustiva. Aunque la temperatura de almacenamiento del alimento debe ser entre 15 y 16°C, no siempre es posible mantenerla, por ello se recomienda que no se eleve a más de 25°C.

Por otra parte es recomendable utilizar el alimento dentro de los 90 días posteriores a su manufactura. Por ello es necesario que el personal se familiarice con el código estampado en el envase del alimento, el cual indica la fecha de elaboración.

El material absorbente dentro de las jaulas llamado "cama de aserrín", se usa para absorber la orina y dar un soporte a las hembras a fin de poder colocar a las crías. Este material debe tener alta capacidad de absorción de humedad sin sufrir daño alguno, ni causar lesiones a las crías. Debe estar libre de polvo, no ser abrasivo, debe ser económico y estar libre de agen

tes patógenos o químicos nocivos, como en el caso de - ciertos insecticidas usados en la agricultura, los cuales está comprobado que producen contracción muscular y depresión, e incluso pueden causar la muerte. (16)

5) Transportación: Cuando los animales de laboratorio son transportados, por ejemplo del área de producción a la de investigación, su comportamiento y su fisiología se ven alterados. Pueden llegar a perder peso y sufrir deshidratación, siendo estos efectos mayores en climas calientes.

La transportación por medios comunes introduce el riesgo adicional de transmisión de enfermedades sobre todo cuando se transportan animales de diferentes sitios a áreas comunes. (12)

6) Factores Ambientales: El hablar acerca del medio ambiente en el cuarto de los animales y en las jaulas involucra la calidad del aire proporcionado y su temperatura y humedad. Además debemos diferenciar entre el medio ambiente del cuarto en general y el medio ambiente en el interior de la jaula. Sin embargo, con el incremento en el uso de filtros en las jaulas de paredes sólidas, la medición del medio ambiente del cuar

to no refleja las condiciones dentro de las jaulas.

El grado de intercambio de aire en los cuartos de animales deberá ser determinado tanto cuando comience a funcionar el bioterio, como cuando el sistema de aireación sea alterado o rebalanceado. Como mínimo, es necesario controlar la temperatura, la humedad y la dirección del flujo de aire dentro de un cuarto, y para ésto se utilizan aparatos como los termómetros y los hidrógrafos en los cuartos donde se deben controlar dichos parámetros. Actualmente existen métodos sistemáticos de evaluación del medio ambiente que efectúan las mediciones de temperatura, humedad y ciclos de luz/oscuridad por medio de computadoras. (20)

Cualquier falla en el equipo de aireación puede resultar en un stress muy severo e incluso en la muerte de los animales. Si no se lleva un registro de dicha humedad y temperatura en los cuartos nunca se podrán conocer las causas de muertes relacionadas con algunas alteraciones del medio ambiente. Por otra parte, el flujo de aire siempre deberá ser del interior del cuarto hacia el exterior, generalmente hacia un corredor o pasillo.

Un aspecto importante en el mantenimiento adecuado de la ventilación y del aire acondicionado es el

control sobre el sistema de filtración de aire. A medida que el filtro se ensucia éste se vuelve más eficiente para detener el paso de partículas; sin embargo, el volumen de aire que pasa por el filtro por unidad de tiempo decrece. No obstante, esta disminución ya está calculada generalmente, y por ello no representa mayor problema.

La probabilidad de identificar por primera vez un patógeno en un cuarto de animales gracias a una inspección del aire es remota, sin embargo, el control cuantitativo bajo condiciones específicas es útil como prueba de identificación de microorganismos contaminantes en las colonias. Es importante que el nivel de actividad y otras condiciones en el cuarto sean constantes entre y durante los períodos de muestreo, ya que de lo contrario las cuentas tendrán muy poco significado. (36)

Los animales de investigación que son mantenidos en cuartos convencionales están continuamente expuestos al amoníaco ambiental que se ha reportado que está en un rango de 2 a 720 ppm. Su fuente principal es la degradación bacteriana de la urea de la orina y de las heces. La proporción de producción y distribución del amoníaco depende de factores como la temperatura,

la humedad, la proporción de intercambio de aire, el número de animales, los filtros en las tapas de las jaulas y el sexo de los animales. (33)(38)

Por otra parte, cuando se emplean métodos de aireación convencional se llegan a tener concentraciones muy elevadas de amoníaco, las cuales van desde 25 hasta 150 ppm, dentro de la jaula. Por ello se han ideado sistemas de ventilación de aire forzado en la parte superior de las jaulas, lo cual permite reducir la concentración de amoníaco hasta 0.3 ppm. Además, este método ayuda a tener un medio ambiente más seco para los animales. (23)(45)

En muchas ocasiones es necesario entrar y salir de los cuartos frecuentemente porque así lo requiere algún estudio o labor que se desempeñe en el bioterio. El hecho de abrir y cerrar continuamente la puerta origina problemas de contaminación debido a un intercambio de aire entre los sitios separados por la puerta, y ésto resulta directamente proporcional al tiempo que permanece abierta la puerta. Por ello, aunque se tengan presiones diferenciales, sistemas de ventilación y flujos de aire direccionales, es muy importante concientizar al trabajador de la importancia de mantener cerradas las puertas para evitar contaminaciones poste

riores. (21)

También se deben considerar aquellos casos en que por la naturaleza del estudio se requiera trabajar con microorganismos patógenos. Esto representa un riesgo potencial para la salud de los animales y del personal. Por ello se requieren sistemas a manera de cubículos que impiden la diseminación de microorganismos o cualquier tóxico al resto de los cuartos. Los cubículos se forman al dividir un cuarto grande en pequeñas áreas de trabajo que funcionan independientemente una de otra de una manera más eficiente. (42)

El sistema de flujo de aire en masa, por el contrario, no se considera muy adecuado debido a que requiere mucho espacio para el equipo necesario. Además presenta costos adicionales de mantenimiento y operación. Este sistema causa turbulencias de aire lo cual puede diseminar más fácilmente los agentes nocivos entre los animales. (37)

7) Luz: Se ha demostrado que los fotoperíodos o ciclos de luz-oscuridad son uno de los factores más importantes que modifican la respuesta biológica. Adicionalmente, la intensidad y características de la luz (longitud de onda), tienen profundos efectos fisiológicos

cos. Por ello es necesario controlarlos.

Los cuartos de animales no deben tener ventanas, de manera que se controle la luz con iluminación artificial. Un período de 12 a 14 horas de luz diariamente es lo más adecuado.

La intensidad con que reciben los animales la luz varía con la posición de la jaula en el estante y con el material (opaco o translúcido) de la jaula. Por ello los animales en la parte superior del estante están expuestos a una mayor intensidad de luz que los de la parte inferior. Esto hace necesario tener una estandarización del material de la jaula e igualmente, es necesario colocar las jaulas al azar de manera que ocupen los diferentes lugares posibles en el estante tanto en la parte superior como en la inferior.

8) Ruido: Se sabe que el ruido produce tremendos efectos fisiológicos y cambios de comportamiento, por ello debe procurarse el evitar los ruidos fuertes o alarmantes. Se cree que los roedores experimentan daños mecánicos en el oído debido a sonidos de 160 decibeles (db), pánico a 140 db y signos de disturbios en el oído interno después de una exposición prolongada a sonidos de alrededor de 100 db. Por ello se recomienda que

los niveles permisibles de ruido en un bioterio sean de aproximadamente 85 db. Se han hecho estudios que muestran que la exposición de ratas a niveles de 83 db durante 6 min/hr por tres semanas causa un incremento de los eosinófilos en la sangre, un incremento del colesterol en el suero, así como aumentos en el nivel de ácido ascórbico adrenal. (2)

9) Personal: El éxito de un bioterio depende en gran parte de la calidad del cuidado que se da a los animales. Por ello, es de primordial importancia el tener técnicos bien entrenados en el cuidado de animales. Generalmente es recomendable asignar a alguien que apenas comienza con algún técnico más experimentado de manera que se forme no sólo en la teoría que reciba de los cursos impartidos, sino también en el aspecto práctico. (9)

Es necesario instruir a los técnicos en el manejo y cuidado de los animales, a la vez que es recomendable proporcionarles conocimientos sobre la biología y la fisiología de los mismos. (41)

Pero también resulta indispensable concientizarlos de los cuidados personales que deben tener tanto para bien de ellos mismos como de los animales del bio

terio.

En primer lugar, los zapatos son la parte de la vestimenta que más está en contacto con microorganismos indeseables, por ello se recomienda el cambio de ropa de calle para minimizar los riesgos. Como complemento al cambio de ropa se aconseja darse un baño antes de usar ropa esterilizada del bioterio y después de terminar las labores y ponerse nuevamente la ropa de calle. El baño es un medio de protección contra la contaminación debido a que remueve el polvo y otras partículas tanto del cabello como del resto del cuerpo. (12)

Otro accesorio que se recomienda utilizar es la mascarilla o cubreboca, ya que minimiza la diseminación de microorganismos presentes en el tracto respiratorio del ser humano. Por otra parte, es de suma importancia el evitar ingerir cualquier alimento dentro del bioterio o en los cuartos de animales y se aconseja el comerlos en algún sitio diseñado especialmente para tal efecto. (12)

Es muy importante concientizar al personal a fin de que trabaje con el mayor cuidado posible y evite accidentes como son las mordidas de roedores. Se sabe que ciertos técnicos de laboratorio han experimentado

fiebre ondulante, escalofríos y mialgia después de - tres días de haber sido mordidos por ratas de laboratorio, y los últimos síntomas continúan aún con la administración de antibióticos. (1)

También se han presentado casos de contagio de enfermedades virales provenientes de borregos debido a un contacto del personal con secreciones orales de animales enfermos. (28)

Resulta obvio que se debe preparar al personal en el manejo adecuado de animales y en el uso de guantes, mascarillas y equipos de protección. También es importante que el personal afectado avise inmediatamente de cualquier accidente con lo cual se podrá tener un diagnóstico más pronto y efectivo del mismo. (12)

II.B) FACTORES QUIMICOS.

Todos los componentes del medio ambiente de los animales están sujetos a cambios sustanciales en su composición química y por ello son capaces de influenciar la respuesta biológica. Además, cada uno de estos componentes ambientales pueden ser contaminados por una gran diversidad de químicos naturales o creados por

el hombre que pueden ser perjudiciales para la salud - del animal o aún peor, pueden causar serias aberraciones en los datos experimentales.

En la siguiente tabla se presentan algunas de las sustancias químicas más frecuentes en un bioterio.

Tabla No. 9: LISTA DE ALGUNOS AGENTES QUIMICOS PRESENTES EN EL MEDIO AMBIENTE DE LOS BIOTERIOS QUE ALTERAN LA RESPUESTA BIOLOGICA. (36)

CONTAMINANTES DEL AIRE:

Polvo y partículas de aserrín, trazas de anestésicos volátiles, desodorantes para los cuartos de animales (hidrocarburos volátiles y eucaliptol), sprays desinfectantes (ácido peracético), cloruro de vinilo, insecticidas, amoníaco, butóxido de piperonilo.

AGUA Y ALIMENTO:

Nitratos, cadmio, arsénico, plomo, aluminio, níquel, insecticidas, micotoxinas, herbicidas, cloroformo, aditivos alimentarios, compuestos estrogénicos, hidrocarburos policíclicos, fenotiazinas, fenotiazoles, flavonas, antibióticos.

JAULAS, ASERRIN Y EQUIPO:

Detergentes, desinfectantes, jabón, óxido de etileno, alcaloides de la madera, cedreno, ceterol, amoníaco, lignina, aldehídos, antibióticos, microbicidas.

DROGAS Y SUSTANCIAS QUIMICAS DE PRUEBA:

Mutágenos, teratógenos, carcinógenos, agentes tóxicos, drogas, vacunas.

SOLVENTES ORGANICOS:

Eteres, alcoholes, cloroformo, tetracloruro de carbono, acetona.

Algunos de los contaminantes químicos más frecuentes son:

1) Gases Contaminantes: Las fuentes de contaminantes en el aire se clasifican como:

- aquellos introducidos por el hombre en el ambiente del cuarto;
- aquellos que se originan en el medio ambiente de la jaula.

Los laboratorios de investigación son frecuentemente depósitos de una gran variedad de sustancias químicas potentes. Por ello, las áreas de animales deben estar siempre separadas de las áreas donde se guardan las sustancias químicas aunque esto es en un principio frecuentemente violado. Así, solventes orgánicos como acetona, éter y cloroformo son usados cerca de las áreas de animales. Las sustancias químicas volátiles no deben usarse en áreas de animales por protección de éstos y del personal, ya que tienen graves efectos. Por ejemplo, se han estudiado las funciones reproductivas, el crecimiento y el desarrollo de animales expuestos continuamente a sustancias químicas durante dos generaciones sucesivas. Se han obser-

vado efectos sobre el peso corporal y la ingesta de alimento, sobre todo en la segunda generación. Sin embargo los efectos nocivos sobre el peso de las crías durante la gestación y la lactancia fueron más graves en la primera generación. Por lo que respecta a la reproducción, se observó una potencial toxicidad reproductiva. (22)

Hasta recientes años se ha investigado acerca de la calidad del aire ambiental en las jaulas de animales. Sin embargo, no se tienen bien comprendidos los diferentes parámetros presentes en el medio ambiente gaseoso de la jaula. Actualmente parece que los contaminantes gaseosos más importantes son los derivados de la acumulación de residuos animales como el dióxido de carbono y el amoníaco, los cuales a su vez dependen del diseño de la jaula, de la densidad de población y de la actividad animal.

El CO_2 cuya concentración en los cuartos generalmente va de 524 a 4517 ppm, se ha encontrado que tiene importantes efectos en la respuesta biológica, mientras que el amoníaco, cuya concentración va de 25 a 177 ppm, tiene severos efectos en el metabolismo intermedio y en la vida media de las células animales, por lo que el amoníaco influye en los resultados de mu

chos estudios en el tracto respiratorio de las ratas - principalmente. (12)

2) Insecticidas: El uso de pesticidas para controlar a los insectos en los bioterios es fuente de se - rias complicaciones debido a contaminaciones ambientales. La primera evidencia de una alteración sobre el metabolismo de fármacos causada por un agente químico ambiental resultó a raíz del uso del clordano en una - colonia experimental.

Los insecticidas alteran la respuesta inmune, inducen linfocitopenia en ratones y otros disturbios metabólicos. Debido a ésto, generalmente se recomienda el uso de medios no químicos para el control de insectos y sólo cuando sea absolutamente necesario se recomienda el uso de insecticidas y sólo aquellos aprobados. Es preferible usar insecticidas no volátiles y limitar la aplicación de éstos a áreas fuera de los cuartos de animales. (12)

3) Fármacos: Los fármacos se usan para el tratamiento o control de enfermedades, anestesia o eutanasia, y para alterar estadios fisiológicos con objetivos de investigación bien definidos.

Los efectos que algunas drogas pueden tener en procedimientos específicos de investigación generalmente no están bien definidos y los investigadores se ven forzados a diseñar experimentos adicionales para evaluar sus efectos en el objetivo de la investigación.

Los efectos que las drogas tienen en los resultados de una investigación dependen de:

- a) las características del ingrediente activo
- b) las características de los vehículos o diluyentes
- c) la ruta o sitio de administración
- d) frecuencia del tratamiento, y
- e) el nivel de dosis. (12)

La adición de agentes químicos al agua y alimentos es un método útil de administración de materiales experimentales. La estabilidad de un fármaco o un agente químico en presencia de nutrientes u otros agentes químicos, luz y degradación bacteriana también deben considerarse. El uso de agua destilada, recipientes oscuros y reemplazo frecuente del agua para beber o del alimento reduce el efecto de esta complicación. (12)

4) Limpiadores y Deodorizantes: Un gran número de

compuestos químicos incluyendo jabones, detergentes, -
desinfectantes, solventes y otros, generalmente se u -
san para limpiar el equipo, los pisos y otros sitios -
del bioterio. Muchos o quizá todos esos agentes quími -
cos son sustancias altamente volátiles que tienen aro -
mas agradables pero que pueden afectar la función mi -
crosomal hepática y pueden alterar la respuesta inmune
de los animales.

Los deodorizantes en los cuartos de animales u -
sualmente son mezclas de hidrocarburos volátiles o de
aceites esenciales, los cuales son inductores o inhibi -
dores de las enzimas microsomales hepáticas. (2)

5) Esterilizadores Químicos: El ácido peracético
es un eficiente bactericida, fungicida y virucida, el
cual ocupa un papel importante en el control de la es -
terilización del equipo. Por sus efectos caústicos, -
la gente que trabaja con él debe llevar máscaras contra
gases, ropas y guantes de protección. Sin embargo los
animales carecen de protección y están sujetos a la ac -
ción de estos agentes. Recientemente se ha encontrado
que el ácido peracético es un cancerígeno. (12)

La práctica de esterilizar el aserrín con óxido -
de etileno tiene efectos nocivos en los resultados ex -

perimentales y no se recomienda por mucho tiempo. La exposición de las dietas al óxido de etileno reduce la concentración de vitaminas y proteínas. (12)

6) Control: Es esencial una continua vigilancia para prevenir la entrada de agentes químicos innecesarios al medio ambiente animal. Las pruebas específicas para agentes químicos individuales pueden ser necesarias para la subsecuente estructuración de ciertos estudios. Las pruebas de calidad del aire diferenciarán entre el aire del cuarto y el aire del medio ambiente interior de la jaula, donde contaminantes como el amoníaco están en concentraciones más altas. (12)

II.C) FACTORES MICROBIOLÓGICOS.

Los microorganismos patógenos se originan de fuentes endógenas como la flora comensal propia de cada animal, o de fuentes exógenas como objetos inanimados o animados adquiridos en el bioterio.

El contacto directo o indirecto de los animales con las diferentes fuentes de origen o bien la salida de las colonias de un sitio a otro son los medios más

comunes para que los animales libres de microorganismos adquieran enfermedades. Adicionalmente, el alimento, el aserrín, las jaulas y los aparatos de experimentación con los cuales se tiene contacto son vectores - potenciales de microorganismos no deseables.

Si bien las rutinas de muestreo ambiental no resultan efectivas en los bioterios ya que frecuentemente proporcionan datos difíciles de interpretar o irrelevantes y no dan un conocimiento de la frecuencia de ocurrencia de una infección adquirida en ese sitio, es recomendable el control de los procedimientos de descontaminación posteriores a la aparición de una enfermedad, así como el alojamiento en cuartos específicos a animales con flora definida.

Los procedimientos de muestreo si se llevan a cabo cada vez que sea indicado pueden ser de gran ayuda en el control de infecciones. Similarmente, el control de la calidad de los procesos de desinfección y esterilización está justificado particularmente cuando se introducen nuevos métodos.

Por último se concluye que los programas de cuidado de animales son organizaciones dinámicas dependientes de la interacción de los animales y la gente con el bioterio. (12)

Si los animales deben permanecer saludables y el bioterio debe funcionar propiamente, existe aún la posibilidad de cometer errores los cuales no provendrán de los animales o de los equipos sino de las personas responsables de encontrar un plan de administración - que mantenga la salud de los animales y la integridad del bioterio físicamente, a la vez que haga de él un sitio aprovechable y funcional.

CAPITULO IV:

PARTE EXPERIMENTAL

P A R T E E X P E R I M E N T A L .

I) MATERIAL.

Para la elaboración del presente trabajo se empleó el siguiente material:

- Material biológico:

- * 4 hembras embarazadas de la cepa de ratón BALB
- * 4 hembras embarazadas de la cepa de ratón CF1
- * 4 hembras embarazadas de la cepa de rata Wistar

De las hembras anteriormente mencionadas se obtuvieron las crías con las que se llevó a cabo la presente investigación, las cuales a continuación se enumeran:

- * Cepa de ratón BALB: 16 crías: 7 machos
9 hembras
- * Cepa de ratón CF1: 11 crías: 8 machos
3 hembras
- * Cepa de rata Wistar: 54 crías: 26 machos
28 hembras

- Jaulas de acrílico con tapa acanalada de metal.
- Mamilas de plástico con tapón de hule y pipetero de acero inoxidable.
- Estantes de metal con carretilla de 4 entrepaños cada uno.

- Balanza electrónica marca Mettler, modelo PC 440 Delta Range.
- Canastilla con tapa para pesar ratones o ratas.
- Perforador para marcar las orejas.
- Cinta adhesiva.
- Bolígrafo.
- Aserrín de madera de pino.
- Alimento comercial Nutricubo para roedores (elaborado por Alimentos Purina, Cuautitlán México).

II) MÉTODOS.

La metodología seguida para llevar a cabo las curvas de crecimiento se dividió en dos etapas:

- a) Evaluación biológica.
- b) Evaluación estadística.

A continuación se describirá cada una de ellas.

a) Evaluación Biológica: El método seguido dentro de esta primera etapa se encaminó a la obtención de los pesos de los animales de laboratorio con los que se trabajó, o sea, rata y ratón, correspondientes a sus respectivas edades en días.

Los pasos seguidos en la evaluación biológica fue

ron los siguientes:

1.- Se eligieron cuatro hembras embarazadas tanto de la cepa de ratón BALB como de la CF1 y se colocó a cada una de ellas en una jaula individual. Cada jaula fue preparada previamente con una cama de aserrín y provista con alimento Nutricubo y con una mamila con pipetero, de manera que se permitió la ingesta de agua "ad libitum".

De la cepa de rata Wistar se eligieron cuatro hembras, las cuales se acomodaron individualmente en jaulas de la misma manera que para los ratones BALB y CF1.

2.- El criterio de elección de las hembras embarazadas se basó en la proximidad aparente del parto, con el fin de poder uniformar al máximo las edades de las crías en base a las fechas de nacimiento próximas entre sí.

3.- Se verificó diariamente qué hembras habían parido y se registró la fecha de nacimiento de cada camada.

4.- Se determinó el número de crías en cada camada y si se encontraba alguna muerta se desechaba inmediata-

mente.

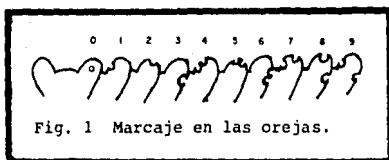
5.- A partir del día de nacimiento se comenzó a pesar a las crías por camada cada 7 días hasta el día 105 - de edad.

6.- Aún cuando las pesadas no se hicieron diariamente, sí se revisó todos los días que no hubiera ningún cada ver en la jaula con el fin de evitar su descomposición y el canibalismo.

7.- Durante la lactancia, la madre de cada camada fue alimentada con alimento Nutricubo, y con agua potable proveniente del grifo correspondiente al cuarto de ca-ca colonia.

8.- El destete se efectuó a los 21 días en las dos cepas de ratón, mientras que en la cepa de rata se hizo el día 19.

9.- Para poder identificar a los animales una vez destetados, se efectuó el marcaje con perforador en las o rejas según el siguiente código:



La oreja derecha corresponde a las unidades.

La oreja izquierda corresponde a las decenas. (12)

10.- Los animales destetados y marcados se colocaron, de acuerdo a su sexo, en jaulas separadas. Es decir, - se tuvieron al final cuatro jaulas para ratones:

2 jaulas para ratones machos de las colonias BALB y CF1,

2 jaulas para ratones hembras de las colonias BALB y CF1.

Las ratas también se separaron de acuerdo al sexo, y se colocaron entre 6 y 7 animales por jaula.

Las características de las jaulas, alimento y agua fueron iguales que para sus respectivas madres.

11.- A partir del destete se pesó individualmente a cada rata o ratón en la balanza electrónica con la canastilla.

12.- El cambio de alimento se realizó cada tercer día por parte de los técnicos asignados a cada colonia. Para fines de este estudio no resultó necesario considerar el peso del alimento consumido ni del alimento desperdiciado.

13.- La limpieza de los cuartos fue realizada por el personal de mantenimiento del bioterio, haciéndose especial énfasis en estantes, pisos y rincones de cada cuarto, así como en el piso y paredes de los pasillos. La limpieza de cada cuarto comprendió barrido, trapeado y sacudido diario y desinfección cada tercer día con derivados fenólicos (Pinol, marca registrada).

14.- El lavado de las mamilas, tapones y pipeteros se efectuó con escobillón y agua cada tercer día.

15.- El cambio de jaulas se hizo cada 2 semanas, mientras que el de aserrín se llevó a cabo cada tercer día, simultáneamente al cambio de alimento. Si al hacer di-

cho cambio se encontraba algún animal muerto, se notificaba con el fin de llevar un control sobre las bajas.

16.- Se contó con un almacén para aserrín y otro para alimento. Ambos estaban acondicionados con ventilación y temperatura controladas.

17.- El aserrín se colocaba en un recipiente especial de madera, mientras que el alimento se conservó en sus empaques originales hasta su total consumo y se encontraba colocado en tarimas alejadas del suelo.

18.- El ciclaje de luz/oscuridad fue de la siguiente manera:

14 horas de luz/día

10 horas de oscuridad/día

Este ciclaje se controló incluso en los fines de semana.

19.- La temperatura interior de los cuartos se controló por medio de termómetros de pared. Esta se mantuvo siempre alrededor de los 22°C. Únicamente en una ocasión fue necesario usar un calefactor en el cuarto de ratas para compensar una baja de temperatura.

20.- El bioterio de la Escuela Superior de Medicina cuenta con sistemas de ventilación y presiones diferenciales en los cuartos de las colonias, lo cual permitió el control de la aireación interna.

21.- La medición de la humedad no se registró debido a que no se cuenta con higrómetros en los cuartos de animales. Sin embargo se consideró un valor tomado con anterioridad durante otro estudio. Dicho valor fue del 67.26%.

b) Evaluación Estadística: Una vez concluida la evaluación biológica se tuvieron los pesos en gramos y la edad en días correspondiente a cada uno de los ratones y ratas utilizados, por lo cual el siguiente paso fue el realizar un análisis de los resultados obtenidos.

Al analizar los datos para las disciplinas de las ciencias de la salud, con frecuencia se encuentra que resulta conveniente saber algo acerca de la relación entre dos variables.

La naturaleza e intensidad de las relaciones entre las variables como peso y edad puede examinarse por medio del análisis de regresión y correlación, los

cuales sirven para averiguar la probable relación entre las variables y la intensidad de dicha relación.

En el problema típico de regresión, el investigador cuenta para el análisis con una muestra de observaciones de alguna población real o hipotética. Basado en los resultados de su análisis de los datos de la muestra, tiene interés en llegar a decisiones acerca de la población para ser capaz de construir un modelo matemático que la represente, lo cual es muy difícil, o determinar si se ajusta a algún modelo establecido. Es improbable que un modelo sea un retrato perfecto de la situación real ya que esta característica se encuentra muy rara vez en los modelos de valor práctico. (8)

Para los fines de este análisis estadístico, los pasos seguidos fueron los siguientes:

- 1.- Se registró el peso y la edad correspondiente de cada uno de los especímenes cada 7 días. Adicionalmente se determinó la media de peso por día de pesada, el logaritmo de la edad y el logaritmo de la media del peso. Con estos datos se construyó una tabla de resultados para cada colonia diferenciando machos y hembras.

2.- Se calculó la regresión lineal y cuadrática para todos los especímenes trabajados y estos datos se incluyeron también en la tabla de resultados.

3.- Con los datos anteriormente mencionados se procedió a calcular las sumatorias de X y Y, el cuadrado de estos términos, las sumatorias de X^2 y Y^2 , y las sumatorias de XY, siendo X la edad en días y Y el peso en gramos. Todos estos datos se emplearon posteriormente en el análisis estadístico.

4.- Aproximación a una recta por mínimos cuadrados: Este es un método de regresión lineal que se utiliza cuando se tiene una variable ordinaria o independiente (X) y otra dependiente (Y); en este caso las variables estarán representadas por la edad en días y el peso en gramos - respectivamente. El método se basa en aproximar a una recta todos los puntos que forman las coordenadas (X,Y) y se define por la siguiente ecuación:

$$y = ax + b \quad 1$$

donde a y b son los coeficientes de regresión que se determinan mediante el sistema de ecuaciones:

$$\sum y = a\sum x + nb \quad 2$$

$$\sum xy = a\sum x^2 + b\sum x \quad 3$$

Tomando los datos de los pescos de ratas y ratones con intervalos de 7 días desde el 7° hasta el 105° día, se pueden obtener las sumatorias de las ecuaciones 2 y 3, con lo que se determinan los valores numéricos de los coeficientes a y b.

5.- Aproximación a una parábola de mínimos cuadrados:

Es un método de regresión cuadrática. La parábola de aproximación de mínimos cuadrados a la serie de puntos $(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_n, y_n)$ tiene la ecuación:

$$y = a_0 + a_1 x + a_2 x^2 \quad 1$$

donde las constantes a_0, a_1 y a_2 se determinan resolviendo el sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned} \Sigma y &= a_0 N + a_1 x + a_2 x^2 \\ \Sigma xy &= a_0 x + a_1 x^2 + a_2 x^3 \\ \Sigma x^2 y &= a_0 x^2 + a_1 x^3 + a_2 x^4 \end{aligned} \quad 2$$

que son las ecuaciones normales para la parábola de mínimos cuadrados.

Las ecuaciones 2 se recuerdan fácilmente observando que se pueden obtener formalmente multiplicando la ecuación 1 por 1, x y x^2 respectivamente, y sumando ambos miembros de las ecuaciones resultantes. Esta técnica

ca puede extenderse para obtener las ecuaciones normales de mínimos cuadrados para curvas cúbicas, cuárticas y en general cualquier curva de mínimos cuadrados.

Como en el caso de la recta de mínimos cuadrados, las ecuaciones 2 se simplifican si x se elige de forma que la sumatoria de x sea cero. También se obtiene simplificación eligiendo las nuevas variables $x = X - \bar{X}$, $y = Y - \bar{Y}$ y usando la ecuación:

$$y = (\sum xy / \sum x^2) x$$

y sustituyendo en esta última ecuación las ecuaciones correspondientes a x y y .

A veces, basándose en los datos muestrales, se desea estimar el valor de una variable Y correspondiente a un valor dado de una variable X . Esto puede conseguirse estimando el valor de Y de la curva de mínimos cuadrados que ajusta los datos muestrales. La curva resultante se llama curva de regresión de Y sobre X , puesto que Y se estima a partir de X .

Si la variable independiente X es el tiempo, los datos muestran los valores de Y en diferentes tiempos. Los datos ordenados en relación al tiempo se denominan series de tiempo. La recta o curva de regresión de Y sobre X en este caso se llama frecuentemente recta de tem

dencia o curva de tendencia y se utiliza a menudo para fines de estimación, predicción o pronóstico.

Cálculo estimativo del error en la proyección: La mejor forma de estimar el error es por medio de la desviación estándar de las variaciones que se tendrán a uno y otro lado de los valores de regresión, cuya designación es S_{yx} y puede determinarse por:

$$S_{yx} = \sqrt{100 - r_{yx}^2 S_y}$$

$$r_{yx} = a \sqrt{\frac{n \sum x^2 - (\sum x)^2}{n \sum y^2 - (\sum y)^2}}$$

$$S_y = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum y^2 - \frac{1}{n(n-1)} (\sum y)^2}$$

En base al valor de r_{yx} (coeficiente de correlación) y de S_{yx} (desviación estándar) que se obtiene se decide cuál es el modelo matemático más adecuado.

6.- Adicionalmente se elaboraron 5 tipos de gráficas - por sexo por colonia para ilustrar los resultados obtenidos: gráfica de dispersión, gráfica de media del peso contra edad y su regresión lineal, gráfica de media del peso contra edad y su regresión cuadrática, gráfica del logaritmo de la media del peso contra logaritmo de la edad y sus regresiones lineal y cuadrática.

6.- En base a los resultados del análisis estadístico y de las gráficas se efectuó la elección del modelo matemático más adecuado para explicar el fenómeno observado.

CAPITULO V:

RESULTADOS

Y

DISCUSION DE RESULTADOS.

RESULTADOS Y
DISCUSION DE RESULTADOS .

I) RESULTADOS.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los pesos de las ratas Wistar, y de los ratones BALB y CF1 durante un periodo de 105 días.

Adicionalmente, se presenta un conjunto de gráficas para cada conjunto de especímenes a las cuales ya se hizo referencia anteriormente.

Finalmente, se muestran una serie de tablas que contienen los resultados arrojados por el análisis estadístico a las cuales se hará referencia durante la discusión de resultados.

OBSERVACIONES.

Los controles de las condiciones del bioterio se -
resumen de la siguiente manera:

Cambio de jaulas	Cada ocho días
Cambio de agua	Diariamente
Cambio de mamilas y pipeteros	Cada tercer día
Cambio de aserrín	Cada tercer día
Ciclos de luz/oscuridad	14 horas de luz por 10 horas de oscuridad
Temperatura	22-24°C
Humedad	67.26% de humedad relativa
Sistema de ventilación	Presiones diferenciales. No recircula el aire viciado. Introduce aire del medio ambiente, lo filtra y lo recircula en todo el cuarto y lleva al exterior el aire viciado.

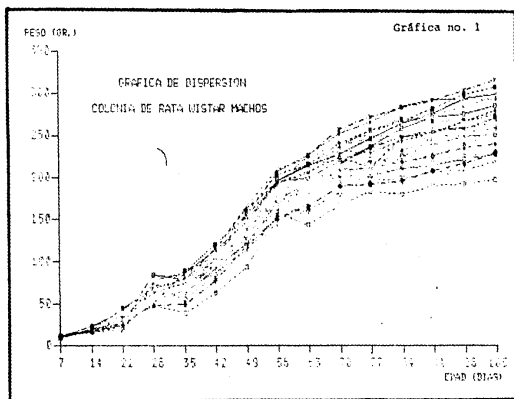
Year	1960	1961	1962	1963	1964
2	10.78	10.41	10.75	10.86	9.71
3	10.70	10.44	10.70	10.70	10.00
4	11.19	10.66	10.40	10.20	10.10
5	11.20	10.70	10.30	10.00	10.10
6	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
7	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
8	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
9	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
10	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
11	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
12	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
13	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
14	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
15	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
16	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
17	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
18	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
19	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
20	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
21	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
22	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
23	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
24	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
25	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
26	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
27	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
28	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
29	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
30	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1960	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1961	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1962	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1963	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1964	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1965	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1966	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1967	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1968	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1969	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10
RENTS - 1970	10.77	10.60	10.30	10.00	10.10

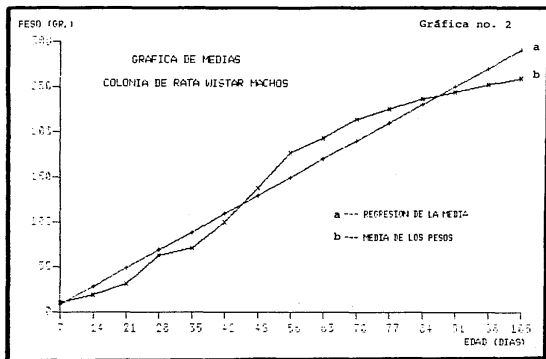
TABLE 10.10 CONTINUED

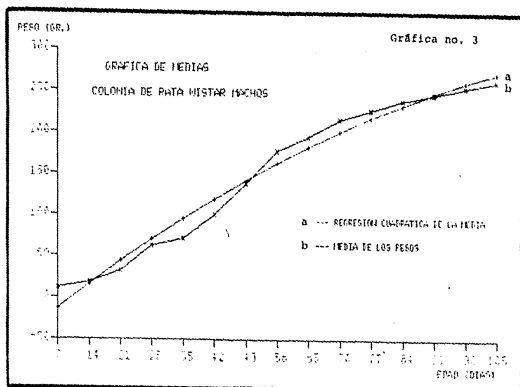
Year	1967	1968	1969	1970	1971
1	133.00	147.70	156.70	173.50	177.50
2	51.70	128.80	170.10	171.50	217.80
3	103.20	130.80	173.70	181.70	217.80
4	111.70	148.10	191.10	205.10	217.80
5	88.50	118.10	150.30	165.10	188.10
6	95.50	108.70	177.10	188.10	211.10
7	121.10	174.80	207.00	227.10	212.10
8	120.10	155.10	181.10	215.10	207.10
9	78.50	121.10	138.70	139.10	201.10
10	102.10	147.10	173.10	188.10	217.10
11	94.10	111.10	131.10	151.10	141.10
12	98.50	133.10	128.10	138.10	201.10
13	102.70	135.70	177.10	211.10	207.10
14	93.07	124.10	153.10	161.10	211.10
15	118.10	163.10	198.10	207.10	210.10
16	108.10	159.10	201.10	216.10	207.10
17	115.10	158.10	210.10	217.10	211.10
18	104.10	134.10	183.10	181.10	211.10
19	111.10	141.10	178.10	182.10	211.10
20	63.10	70.10	101.10	101.10	101.10
21	58.10	119.10	144.10	121.10	181.10
22	77.10	119.10	111.10	111.10	111.10
23	97.10	131.10	131.10	111.10	209.10
24	98.70	131.10	130.10	111.10	199.10
25	110.10	128.10	171.10	208.10	211.10
26	110.10	140.10	177.10	201.10	211.10
27	101.10	138.10	171.10	174.10	191.10
28	109.10	141.10	170.10	170.10	191.10
29	110.10	140.10	177.10	201.10	211.10
30	101.10	138.10	171.10	174.10	191.10
31	109.10	141.10	170.10	170.10	191.10
32	110.10	140.10	177.10	201.10	211.10
33	101.10	138.10	171.10	174.10	191.10
34	109.10	141.10	170.10	170.10	191.10
35	110.10	140.10	177.10	201.10	211.10
36	101.10	138.10	171.10	174.10	191.10
37	109.10	141.10	170.10	170.10	191.10
38	110.10	140.10	177.10	201.10	211.10
39	101.10	138.10	171.10	174.10	191.10
40	109.10	141.10	170.10	170.10	191.10
41	110.10	140.10	177.10	201.10	211.10
42	101.10	138.10	171.10	174.10	191.10
43	109.10	141.10	170.10	170.10	191.10
44	110.10	140.10	177.10	201.10	211.10
45	101.10	138.10	171.10	174.10	191.10
46	109.10	141.10	170.10	170.10	191.10
47	110.10	140.10	177.10	201.10	211.10
48	101.10	138.10	171.10	174.10	191.10
49	109.10	141.10	170.10	170.10	191.10
50	110.10	140.10	177.10	201.10	211.10

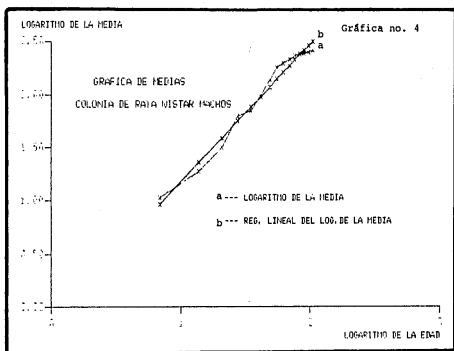
CONTINUACION

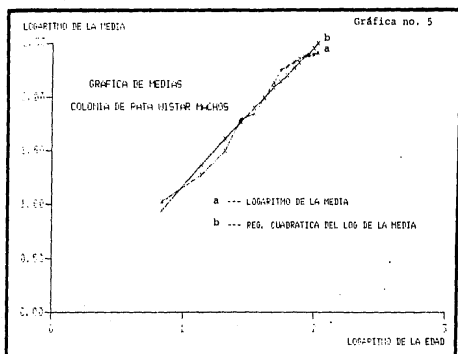
BASE 20-1952	64	61	65	62	
1	240.80	240.80	275.20	240.80	240.80
2	240.80	240.80	256.70	215.10	240.80
3	240.80	240.80	251.30	240.80	240.80
4	240.80	240.80	272.60	275.20	240.80
5	240.80	241.40	245.60	240.80	240.80
6	240.80	240.80	237.80	249.20	240.80
7	240.80	240.40	243.30	215.50	240.80
8	240.80	270.10	247.70	240.80	271.60
9	240.80	240.40	223.40	204.70	240.80
10	240.80	236.90	239.60	240.90	240.80
11	240.80	219.30	222.80	200.80	240.80
12	240.80	241.90	247.10	224.10	240.80
13	240.80	240.80	235.30	240.80	240.80
14	240.80	242.20	213.60	214.30	240.80
15	240.80	247.90	223.30	240.80	240.80
16	240.80	247.70	222.30	240.80	240.80
17	240.80	240.80	275.20	240.80	240.80
18	240.80	244.70	252.70	240.80	240.80
19	240.80	223.30	240.30	202.60	240.80
20	240.80	241.10	190.40	192.70	240.80
21	240.80	193.50	207.20	240.80	240.80
22	192.90	196.40	209.30	240.80	240.80
23	240.80	216.50	224.70	200.30	240.80
24	240.80	232.20	240.80	254.70	240.80
25	240.80	243.10	242.10	240.80	240.80
26	240.80	247.60	242.80	240.70	240.80
MEOTA	240.80	237.74	244.96	240.80	240.80
REGULIN.MEOTA	240.80	230.90	250.11	240.80	240.80
REGULIN.MEOTA	240.80	232.14	249.10	240.80	240.80
100.MEOTA	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
100.MEOTA	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
100.MEOTA 100.100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
100.MEOTA 100.100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

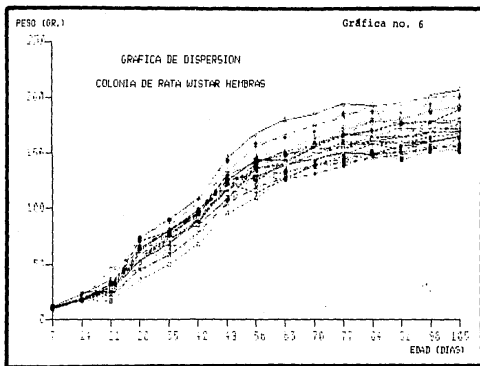


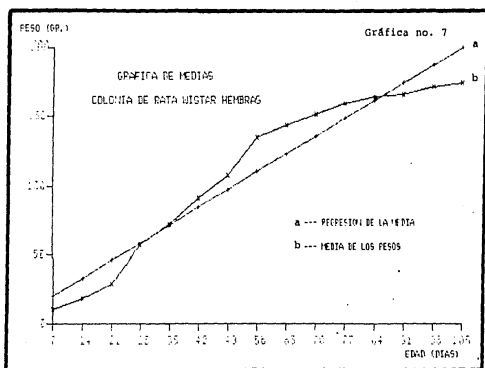


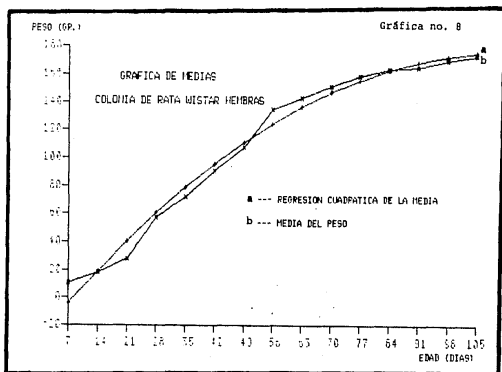


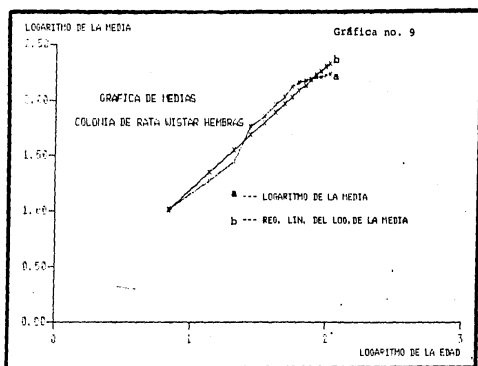












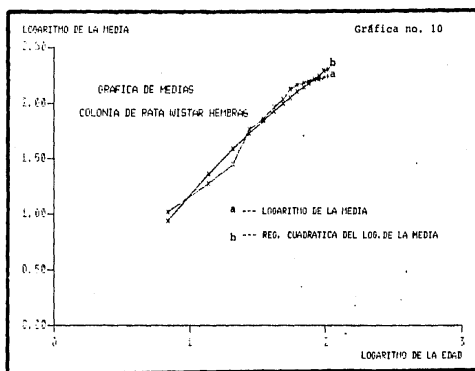
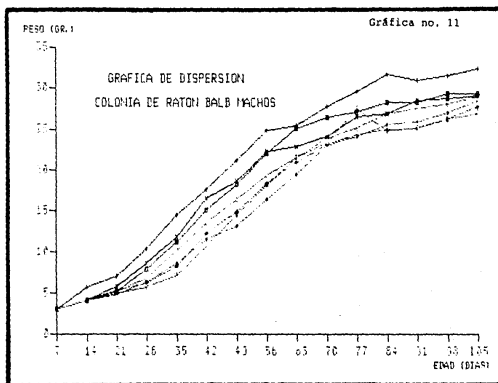
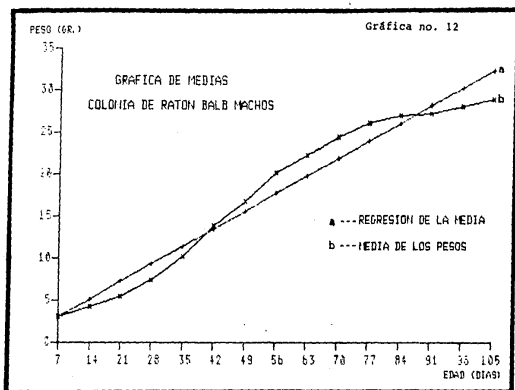


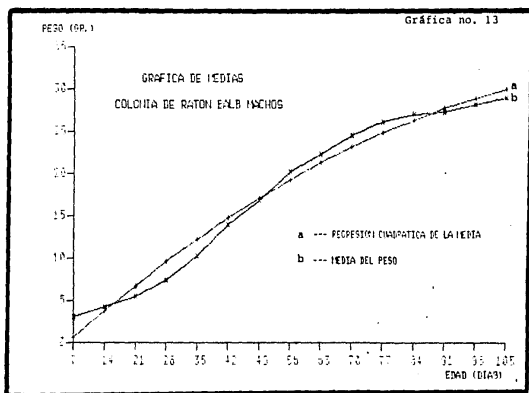
TABLE 1		TABLE 2		TABLE 3	
Year	Value	Year	Value	Year	Value
1950	10.56	1950	10.56	1950	10.56
1951	17.25	1951	17.25	1951	17.25
1952	15.63	1952	15.63	1952	15.63
1953	15.91	1953	15.91	1953	15.91
1954	16.31	1954	16.31	1954	16.31
1955	17.81	1955	17.81	1955	17.81
1956	19.25	1956	19.25	1956	19.25
1957	21.77	1957	21.77	1957	21.77
1958	22.52	1958	22.52	1958	22.52
1959	24.77	1959	24.77	1959	24.77
1960	26.77	1960	26.77	1960	26.77
1961	28.77	1961	28.77	1961	28.77
1962	31.77	1962	31.77	1962	31.77
1963	34.77	1963	34.77	1963	34.77
1964	37.77	1964	37.77	1964	37.77
1965	40.77	1965	40.77	1965	40.77
1966	43.77	1966	43.77	1966	43.77
1967	46.77	1967	46.77	1967	46.77
1968	49.77	1968	49.77	1968	49.77
1969	52.77	1969	52.77	1969	52.77
1970	55.77	1970	55.77	1970	55.77
1971	58.77	1971	58.77	1971	58.77
1972	61.77	1972	61.77	1972	61.77
1973	64.77	1973	64.77	1973	64.77
1974	67.77	1974	67.77	1974	67.77
1975	70.77	1975	70.77	1975	70.77
1976	73.77	1976	73.77	1976	73.77
1977	76.77	1977	76.77	1977	76.77
1978	79.77	1978	79.77	1978	79.77
1979	82.77	1979	82.77	1979	82.77
1980	85.77	1980	85.77	1980	85.77
1981	88.77	1981	88.77	1981	88.77
1982	91.77	1982	91.77	1982	91.77
1983	94.77	1983	94.77	1983	94.77
1984	97.77	1984	97.77	1984	97.77
1985	100.77	1985	100.77	1985	100.77
1986	103.77	1986	103.77	1986	103.77
1987	106.77	1987	106.77	1987	106.77
1988	109.77	1988	109.77	1988	109.77
1989	112.77	1989	112.77	1989	112.77
1990	115.77	1990	115.77	1990	115.77
1991	118.77	1991	118.77	1991	118.77
1992	121.77	1992	121.77	1992	121.77
1993	124.77	1993	124.77	1993	124.77
1994	127.77	1994	127.77	1994	127.77
1995	130.77	1995	130.77	1995	130.77
1996	133.77	1996	133.77	1996	133.77
1997	136.77	1997	136.77	1997	136.77
1998	139.77	1998	139.77	1998	139.77
1999	142.77	1999	142.77	1999	142.77
2000	145.77	2000	145.77	2000	145.77
2001	148.77	2001	148.77	2001	148.77
2002	151.77	2002	151.77	2002	151.77
2003	154.77	2003	154.77	2003	154.77
2004	157.77	2004	157.77	2004	157.77
2005	160.77	2005	160.77	2005	160.77
2006	163.77	2006	163.77	2006	163.77
2007	166.77	2007	166.77	2007	166.77
2008	169.77	2008	169.77	2008	169.77
2009	172.77	2009	172.77	2009	172.77
2010	175.77	2010	175.77	2010	175.77
2011	178.77	2011	178.77	2011	178.77
2012	181.77	2012	181.77	2012	181.77
2013	184.77	2013	184.77	2013	184.77
2014	187.77	2014	187.77	2014	187.77
2015	190.77	2015	190.77	2015	190.77
2016	193.77	2016	193.77	2016	193.77
2017	196.77	2017	196.77	2017	196.77
2018	199.77	2018	199.77	2018	199.77
2019	202.77	2019	202.77	2019	202.77
2020	205.77	2020	205.77	2020	205.77

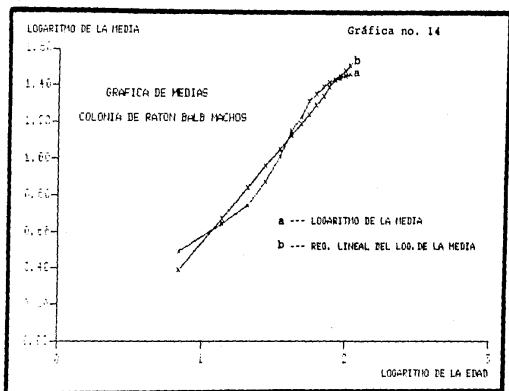
APRIL 19, 12, CONTINUATION

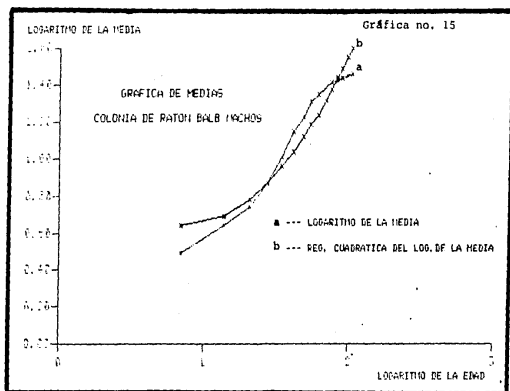
INVESTMENT	77	84	87	98	100
1	38.78	37.00	38.00	37.77	38.11
2	34.77	34.78	34.02	34.57	34.54
3	37.17	34.71	34.00	34.54	34.54
4	37.00	38.37	34.57	35.44	34.54
5	25.24	27.04	27.00	26.74	25.04
6	24.43	24.00	24.13	24.43	24.04
7	24.13	23.04	23.00	23.04	24.04
*INDIA 100 INDEX	23.20	23.11	23.40	23.20	23.10
*INDONESIA	24.00	23.19	23.17	23.40	23.10
*INDONESIA-BEIJING	24.67	23.41	23.17	23.04	23.10
*JAPAN	1.81	1.87	1.84	1.81	1.81
*KOREA	1.80	1.92	1.80	1.90	1.80
*MALAYSIA	1.81	1.84	1.84	1.84	1.80
*SINGAPORE	1.30	1.44	1.40	1.55	1.40











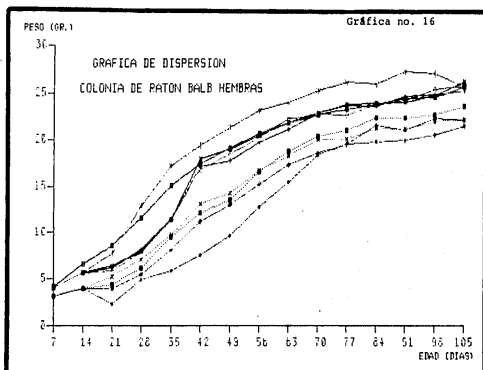
ESTADÍSTICA DE LA PRODUCCIÓN DE ALGODÓN EN EL PERU, 1968					
PRODUCCIÓN DE ALGODÓN (en toneladas)					
AÑO	1968	1967	1966	1965	1964
1	4.15	2.72	2.12	2.00	2.00
2	4.1	2.9	2.11	2.0	2.0
3	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
4	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
5	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
6	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
7	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
8	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
9	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
10	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
11	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
12	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
13	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
14	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
15	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
16	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
17	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
18	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
19	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
20	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
21	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
22	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
23	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
24	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
25	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
26	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
27	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
28	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
29	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
30	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
31	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
32	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
33	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
34	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
35	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
36	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
37	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
38	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
39	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
40	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
41	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
42	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
43	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
44	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
45	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
46	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
47	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
48	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
49	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
50	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
51	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
52	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
53	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
54	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
55	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
56	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
57	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
58	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
59	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
60	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
61	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
62	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
63	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
64	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
65	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
66	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
67	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
68	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
69	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
70	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
71	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
72	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
73	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
74	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
75	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
76	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
77	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
78	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
79	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
80	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
81	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
82	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
83	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
84	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
85	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
86	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
87	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
88	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
89	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
90	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
91	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
92	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
93	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
94	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
95	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
96	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
97	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
98	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
99	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0
100	4.1	2.9	2.1	2.0	2.0

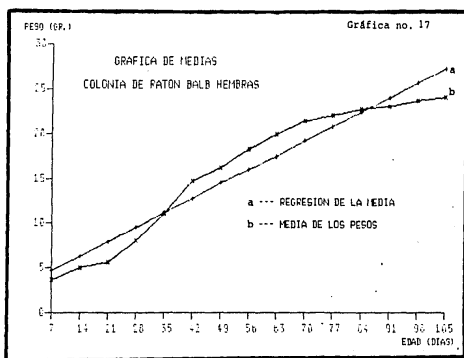
INDICE DE LOS PRECIOS DEL ALGODÓN

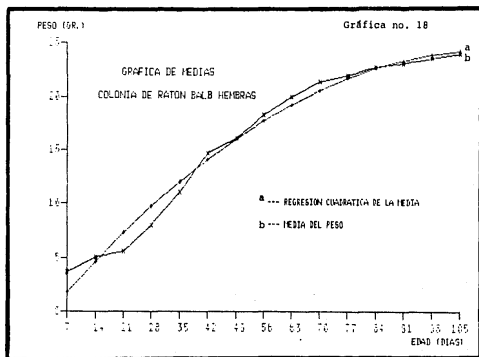
DATA/EDAD-DIAS	41	42	43	44	45
1	11.77	12.24	22.17	21.86	22.22
2	17.11	17.77	22.11	21.81	22.21
3	16.77	16.87	22.11	21.81	22.21
4	17.37	17.67	22.11	21.81	22.21
5	16.27	16.27	22.11	21.81	22.21
6	11.10	12.26	22.11	21.81	22.21
7	7.82	8.82	22.11	21.81	22.21
8	12.11	12.75	22.11	21.81	22.21
9	12.15	12.21	22.11	21.81	22.21
10	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
11	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
12	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
13	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
14	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
15	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
16	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
17	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
18	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
19	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
20	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
21	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
22	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
23	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
24	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
25	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
26	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
27	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
28	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
29	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
30	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
31	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
32	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
33	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
34	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
35	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
36	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
37	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
38	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
39	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
40	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
41	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
42	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
43	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
44	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
45	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
46	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
47	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
48	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
49	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21
50	12.11	12.11	22.11	21.81	22.21

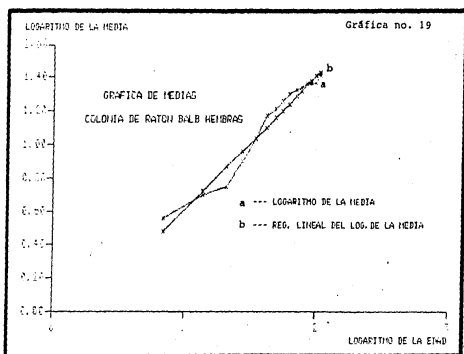
TABELA NO. 18. COMPARAÇÃO

RENTABILIDADE CLASSE	77	87	91	99	100
1	23,75	23,68	24,62	24,96	26,15
2	20,75	23,21	24,16	24,82	25,18
3	23,28	23,72	24,17	24,72	25,70
4	20,27	21,78	21,71	22,27	22,80
5	22,44	23,68	24,25	24,77	25,61
6	19,48	19,80	19,71	20,32	21,34
7	19,62	21,43	20,11	22,07	21,70
8	20,07	21,05	21,57	22,01	22,31
9	20,10	21,17	21,68	22,11	22,43
10 - 100% (CL. FLUO)	22,10	21,82	22,17	22,92	24,14
PRODUTIVIDADE	20,65	22,17	22,10	23,71	24,81
PRODUTIVIDADE FA	21,10	21,70	22,24	23,06	24,21
PRODUTIVIDADE	1,74	1,72	1,75	1,75	1,75
PROD. CUM.	1,75	1,72	1,72	1,75	1,75
PROD. CUM. MEDIA	1,71	1,77	1,77	1,74	1,74
PROD. CUM. LOGARMO	1,72	1,71	1,73	1,71	1,73









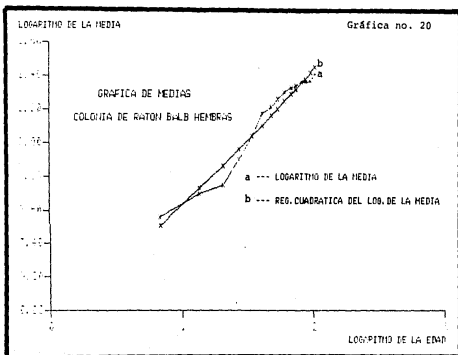


Tabla 13. Rendimiento de la leche de las vacas
de la Granja Central.

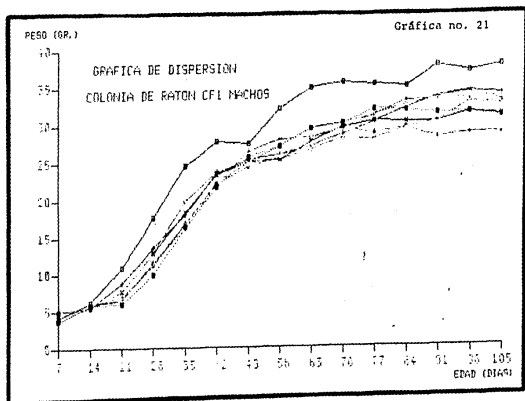
Tratamiento	1	2	3	4	5	6
1	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
2	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
3	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
4	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
5	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
6	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
7	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
8	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
9	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
10	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
11	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
12	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
13	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
14	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
15	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
16	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
17	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
18	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
19	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00
20	1.00	0.75	1.15	1.00	1.10	1.00

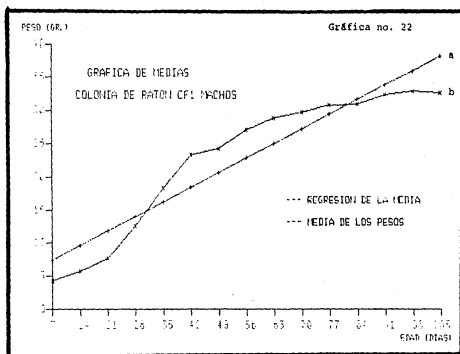
Tabla 14. De la lactación

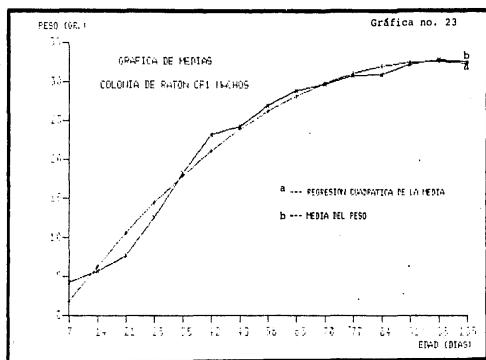
Tratamiento	1	2	3	4	5	6
1	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
2	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
3	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
4	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
5	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
6	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
7	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
8	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
9	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
10	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
11	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
12	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
13	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
14	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
15	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
16	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
17	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
18	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
19	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17
20	22.27	25.15	21.15	23.70	22.17	23.17

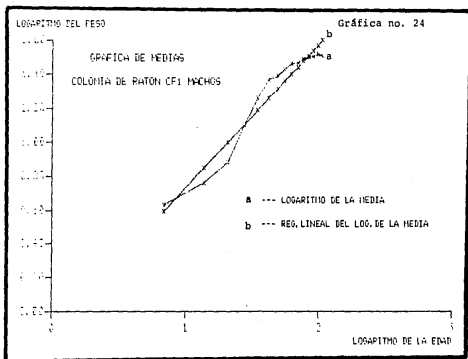
TABLA NO. 14. CONTINUACION.

RATA/EDAD-TIAS	77	84	91	92	105
1	30.48	30.25	30.30	31.57	31.00
2	33.29	32.65	32.57	34.33	33.50
3	27.89	29.51	31.20	30.80	31.48
4	25.32	35.05	31.87	37.02	37.33
5	24.23	32.54	33.70	34.20	33.62
6	26.78	29.71	26.12	28.00	28.74
7	31.19	32.02	33.35	32.90	33.51
8	31.56	31.20	31.36	31.04	31.01
*MEDIA DEL PESO	30.57	31.02	32.37	32.54	32.76
*MED. MEDIA	27.48	31.45	32.23	33.01	30.27
*MED. COND. MEDIA	37.77	32.26	32.57	37.71	32.50
*LOG. MEDIA	1.49	1.72	1.71	1.52	1.51
*LOG. COND.	1.68	1.92	1.95	1.77	1.62
*MED. LOG. MEDIA	1.45	1.31	1.54	1.37	1.20
*MED. COND. LOG. MED	1.48	1.51	1.53	1.38	1.58









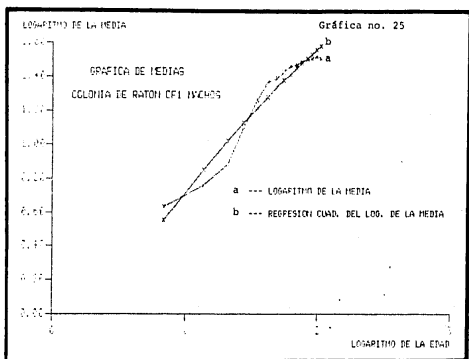


Tabla No. 15. Tasa de Fertilidad Total por Sexo
Países de América Latina

País (Sexo)	1950	1955	1960	1965	1970
1 (M)	2.85	5.46	6.71	8.71	10.14
2 (M)	2.97	5.60	6.84	8.81	10.28
3 (M)	4.20	6.30	8.07	10.00	12.00
4 (M)	3.10	5.20	6.40	8.20	10.00
5 (M)	6.07	8.65	10.80	12.15	13.70
6 (M)	3.17	5.27	6.40	8.10	9.70
7 (M)	1.50	1.77	1.80	1.65	1.47
8 (M)	1.64	1.64	1.52	1.47	1.37
9 (M)	1.58	1.61	1.57	1.44	1.37
10 (M)	1.47	1.61	1.58	1.30	1.17

Tabla No. 16. Esperanza de Vida

País (Sexo)	1950	1955	1960	1965	1970
1 (M)	19.58	19.10	17.01	15.10	14.71
2 (M)	19.27	20.74	20.10	18.70	18.00
3 (M)	21.21	24.10	25.24	25.27	24.42
4 (M)	22.25	21.40	21.07	20.10	19.00
5 (M)	21.70	17.10	15.10	14.10	12.70
6 (M)	17.00	15.00	13.10	11.70	10.00
7 (M)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
8 (M)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
9 (M)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
10 (M)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Tabla No. 10. Datos obtenidos para el área
BARRA NEGRO-LIACS.

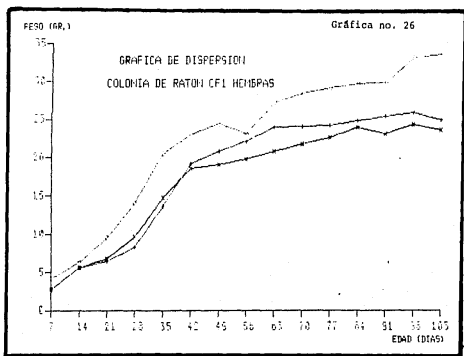
Altura (cm)	1	2	3	4	5
1	2.75	5.40	8.07	10.71	13.37
2	2.90	5.50	8.14	10.77	13.40
3	3.20	6.30	8.90	11.50	14.10
ANALIA DEL PICO	3.00	5.00	7.00	9.00	11.00
*REG.MEDIA	3.07	5.47	7.77	10.17	12.57
ANAL. CUAD. MEDIA	3.11	5.37	7.63	9.89	12.15
*REG.MEDIA	3.01	5.27	7.53	9.79	12.05
ANAL. CUAD. MEDIA	3.00	5.20	7.40	9.60	11.80
*REG.MEDIA	2.91	5.11	7.31	9.51	11.71

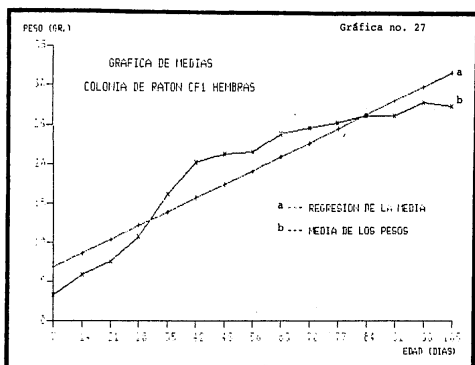
Tabla No. 11. Datos obtenidos

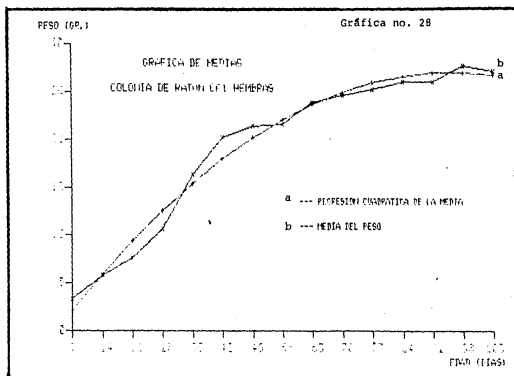
BARRA NEGRO-LIACS	42	46	50	54	58
1	18.06	19.10	19.31	19.72	20.12
2	19.07	20.21	20.48	20.76	21.02
3	22.11	24.47	26.34	27.21	28.10
ANALIA DEL PICO	20.23	21.40	21.67	22.07	22.43
*REG.MEDIA	19.71	21.00	21.33	21.60	21.96
ANAL. CUAD. MEDIA	17.00	18.24	18.71	19.08	19.40
*REG.MEDIA	17.01	18.22	18.64	19.01	19.33
ANAL. CUAD. MEDIA	16.84	18.07	18.54	18.91	19.23
*REG.MEDIA	16.81	18.00	18.47	18.84	19.17
ANAL. CUAD. MEDIA	16.22	17.47	17.94	18.31	18.63

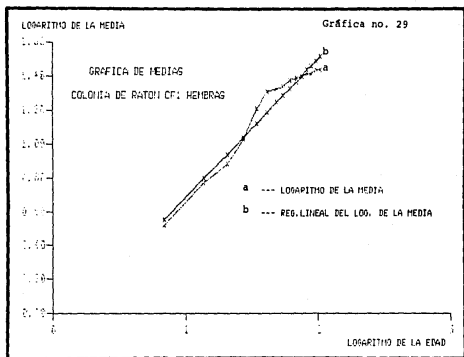
TABLE 1. SOIL CHARACTERISTICS

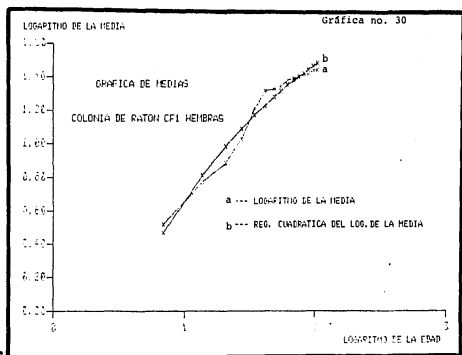
SOIL TYPE	77	84	91	98	05
CLAY	21.5	21.77	22.14	21.34	21.72
S	24.7	24.04	23.44	24.25	24.11
LO	28.12	28.62	27.91	28.41	28.16
NO. OF SOIL PROFILES	1012	28.17	22.17	27.11	27.24
CLAY MINERAL	21.52	21.57	22.02	21.01	21.22
SMECTIN	21.17	21.11	21.17	21.11	21.11
ILLITE	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1
KAOLINITE	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1
VERMICULITE	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1
CHLORITE	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1
AMPHIPHILIC	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1











OBSERVACIONES.

RATA WISTAR.

Se comenzó a trabajar con 26 machos y 29 hembras, de las cuales sólo murió una hembra en el transcurso del estudio.

RATON BALB.

Se presentó en un principio un elevado índice de mortalidad en esta cepa. Se trabajó inicialmente con 11 machos y 16 hembras y al final del estudio sólo llegaron 7 machos y 9 hembras, es decir, sucedieron 11 muertes en total.

RATON CF1.

La mortalidad en esta cepa fue menor, ya que también fue menor el número inicial de especímenes con los que se comenzó a trabajar. Al final del estudio llegaron solamente 8 machos y 3 hembras, y se comenzó a trabajar con 9 machos y 6 hembras, lo cual indica que se presentaron 4 muertes en total.

En el caso de las ratas Wistar el mayor número de muertes se presentó antes del destete, mientras que en

las dos cepas de ratón las muertes se presentaron después del destete en su mayoría.

Sólo se consideraron para los cálculos estadísticos los especímenes que llegaron al final del estudio.

II) DISCUSION DE RESULTADOS.

Se comenzará por discutir el efecto de los diversos factores físicos, químicos y microbiológicos del bioterio sobre los resultados obtenidos.

Resultó ser de gran importancia para este estudio el hecho de que el bioterio cuente con un diseño adecuado que permite el acceso a personas autorizadas únicamente. De esta forma, los especímenes empleados nunca se vieron afectados por la manipulación de personas ajenas. Por otra parte, el haber contado con cuartos de recepción para animales provenientes del exterior separados de los cuartos de producción, ayudó a evitar la presencia de alguna epizootia que hubiera mermado el número de animales para el estudio. Se considera que la calidad del alimento, agua y aserrín utilizados durante el estudio siempre fue adecuada, mientras que la utilización de sitios específicos para los desechos y animales muertos evitó cualquier fuente de contaminación presente en los cuartos.

El haber realizado el cambio de jaulas con una frecuencia de cada ocho días evitó la concentración elevada de amoníaco, la suciedad y la subsecuente contaminación y enrarecimiento de la atmósfera interna de las

jaulas, todo lo cual resulta definitivo en el desarrollo normal de los especímenes. La utilización de agua potable así como el cambio frecuente de pipeteros y mamilas permitió mantener la buena salud de los animales empleados.

Otro factor importante fue el control del aroma y consistencia del aserrín utilizado de manera que los animales no inhalaran vapores de aceites o resinas. Las diferencias de tamaño de las partículas de aserrín se considera que en nada afectaron los resultados del estudio.

La transportación de los animales en anaqueles rodantes se aplicó con el fin de evitar el nerviosismo de los animales al sentir la vibración o el movimiento de las jaulas.

La vigilancia de los ciclos de luz/oscuridad por parte del técnico asignado a las colonias de rata y ratón fue determinante para evitar la interrupción de la actividad normal de los animales, aún durante los fines de semana. De esta manera se ayudó a evitar las grandes alteraciones de peso durante los fines de semana o las variaciones en la ingesta de agua y alimento.

Por lo que respecta a la temperatura, la única variación que se consideró de importancia fue un descenso

a 19.8°C, ocasión en la cual se requirió del uso de un calefactor dentro del cuarto de ratas. Dicha variación se debió a una deficiencia del control central de temperatura. El cuarto de ratas fue el más afectado debido a que su tamaño es casi del doble del de los cuartos de ratones.

El ruido es un factor que influye grandemente en el estado de nerviosismo de los animales como se pudo constatar. De todos ellos, el más afectado es la rata, la cual es particularmente sensible a la entrada y salida de personas, al abrir y cerrar de puertas y al ruido producido por alguna actividad dentro del cuarto. Por ello fue de gran importancia el cuidar este parámetro con el fin de evitar el stress en los especímenes usados para este estudio. En ningún momento se determinaron niveles de ruido que fueran anormales o que pudieran afectar la tranquilidad de los animales.

Una gran ventaja que se tuvo al desempeñar este estudio fue la presencia de la misma persona para el cuidado de las colonias, de manera que se evitó el someter a los animales a diferentes formas de trato y manipulación. La comunicación con el técnico coadyuvó a llevar un control de los cambios de agua, alimento, aserrín, así como el registro del número de bajas en cada cepa.

Debido a que durante el fin de semana las actividades en el bioterio se reducían al mínimo, los días lunes generalmente se percibía un enrarecimiento de la atmósfera de los cuartos, el cual se detectaba mediante un penetrante olor a orina, principalmente en el cuarto de ratas. Otros aromas como los de desinfectantes y limpiadores generalmente no se percibían en los cuartos de producción.

La labor del laboratorio de control del bioterio se considera de gran ayuda en el desarrollo de este estudio debido a que fue un medio de evitar la aparición de microorganismos patógenos o de epizootias que impidieran el desarrollo normal de la investigación. Esto es particularmente importante si consideramos que se trabajó con especímenes de flora definida, es decir, animales que son en un principio libres de microorganismos a los que se ha inoculado una determinada flora microbiológica y en cuyo ambiente sólo existen los microorganismos que se les ha inoculado. (5)

Mediante una observación de la frecuencia de muertes que se presentaron en cada uno de los grupos de animales de trabajo, es posible establecer que la mortalidad es mayor en ratones que en ratas, y dentro de los -

ratones, los de la cepa BALB son los que presentan una mayor frecuencia, lo cual puede deberse a la mayor capacidad de los ratones CF1 para adaptarse a este tipo de estudios por ser una colonia halogénica (abierta). También es importante hacer notar que la presencia de muertes posteriores al destete fue grande en ratones, mientras que en ratas fue mínima. Sin embargo, las muertes registradas antes del destete fueron más numerosas en ratas Wistar. Este fenómeno se puede atribuir a la mayor capacidad de las ratas para adaptarse al nuevo alimento y a la falta de leche materna, mientras que en los ratones ésto último repercute definitivamente sobre la sobrevivencia de los animales recién destetados.

Respecto a la manera de procesar la información obtenida, se prefirió optar por la utilización de una computadora ya que se ha encontrado que debido a la extensa cantidad y complejidad de la información que generalmente se requiere procesar en este tipo de estudios con el fin de obtener resultados que sean fáciles de interpretar resulta conveniente el aprovechamiento de las facilidades que nos proporciona un computador con el fin de lograr resultados más exactos aplicables a este estu

dio. Por otra parte, la presentación de las gráficas resulta más adecuada y los datos son más fáciles de apreciar e interpretar. (43)

Las regresiones lineal y cuadrática permiten determinar qué tan próximos al comportamiento teórico (ideal) se encuentran los datos obtenidos. En base a esta proximidad, a los resultados estadísticos y a la simplicidad del modelo fue como se efectuó la elección del mismo.

El análisis de residuales (apéndice A) permitió evaluar las diferencias entre los datos obtenidos y los teóricos calculados mediante ambas regresiones con el fin de reforzar la elección del modelo matemático más adecuado.

En base a los resultados proporcionados por el análisis de residuales (apéndice A), fue seleccionado inicialmente el modelo de regresión cuadrática, el cual aunque resulta ser matemáticamente más complejo - que el lineal, demuestra que las diferencias entre los datos experimentales y los teóricos son mucho menores, lo que indica que hay menor desviación del modelo real al modelo ideal y por lo tanto, la mayor parte del experimento puede ser descrita por él.

Las desviaciones más significativas se aprecian en

los dos o tres primeros puntos, los cuales se encuentran muy por debajo del valor teórico, sin embargo a partir del día 28 en casi todas las colonias, a excepción de la rata Wistar hembras, (apéndice A), los residuales son mucho menores en la regresión cuadrática que en la regresión lineal, tanto para los valores en donde el dato real es mayor al teórico, como para aquéllos en los que sucede lo contrario. Sin embargo, las desviaciones para la regresión lineal son mucho más apreciables, lo cual indica que el ajuste es mucho menor en esta regresión.

Para fundamentar la elección de la regresión cuadrática sobre la lineal, fue necesario basarse también en los resultados de las gráficas realizadas para ambas regresiones.

La realización de los tres tipos diferentes de gráficas, es decir, de dispersión, de media del peso y de logaritmo de la media del peso, se consideró de gran ayuda pues permitió tener una visión tanto individual como de conjunto más amplia del comportamiento de los especímenes durante el estudio.

La gráfica de dispersión nos proporciona una idea de qué tanto se desvían los datos entre sí, pero es tal la abundancia de datos en algunos casos que no es posi-

ble apreciar el comportamiento de manera más específica o individual. Por ello se realizó la gráfica de medias del peso, la cual permite observar un comportamiento - grupal por semana de tal forma que es posible apreciar mejor la tendencia del fenómeno estudiado al reducirse el número de datos.

El haber obtenido la gráfica de logaritmos de las medias del peso tuvo inicialmente la finalidad de que - el investigador apreciara las desviaciones y/o comportamiento de los especímenes a través del tiempo de forma más exacta. Sin embargo, cuando se trata de obtener una recta ideal generalmente los datos se pasan a logaritmos y en este punto es donde la gráfica de logaritmo de la media ayudó a decidir cuál sería el modelo matemático a elegir para explicar mejor el fenómeno.

Por lo que respecta a otras aplicaciones, esta gráfica no resultó muy útil y se consideraron de mayor valía las de dispersión y las de medias, ya que por lo general, se repitió el mismo comportamiento en las gráficas de medias y de logaritmo de las medias.

Con el fin de poder apreciar los alcances logrados por este estudio, resulta interesante analizar cada uno de los grupos de gráficas con el fin de poder determinar las diferentes tendencias de comportamiento de los espe

címenes utilizados y fundamentar mejor la elección del modelo de regresión.

El comportamiento de todas las colonias se mantuvo dentro de un patrón estándar tanto para machos como para hembras en rata y ratón. A pesar de que la colonia de ratón CF1 hembras terminó sólo con tres especímenes, sí se consideró dentro del análisis estadístico, aún cuando no posee gran valía su información para la elección del modelo.

Las gráficas de dispersión para rata Wistar machos y hembras (gráfica no. 1 y 6), son las que muestran un comportamiento más uniforme y se observa menor cantidad de datos disparados en comparación con las demás gráficas. Las de ratón BALB machos y hembras (gráficas no. 11 y 16), muestran menor uniformidad, especialmente las de hembras, ya que hay puntos muy desviados uno de otro. La gráfica de dispersión CF1 machos (gráfica no. 21), muestra únicamente un conjunto de datos muy separado, pero el resto se mantiene bastante uniforme; mientras que la de hembras (gráfica no. 26), no se considera muy representativa debido a que sólo llegaron tres especímenes al final del estudio.

Todas estas gráficas permiten apreciar el comportamiento sigmoidal de los datos, en donde hay un inicio -

con variaciones fuertes, después se nota un aumento con
tínuo de peso, para llegar finalmente casi a una estabi
lización del peso al final del seguimiento, siendo este
comportamiento más notorio en los ratones que en las ra
tas debido a la mayor capacidad de estas últimas a adap
tarse a nuevas formas de vida que incluyan la separa -
ción de la madre y la forma de la alimentación.

Por lo que respecta a las gráficas de medias del -
peso, se puede observar el mismo tipo de comportamiento
ascendente (sigmoïdal) en todas las colonias, siendo a -
hora, en este caso, la colonia BALB la que muestra ma -
yor uniformidad, ya que la rata Wistar y el ratón CF1 -
presentan variaciones notables en la curva, acompañadas
de ascensos y descensos del peso más o menos frecuentes.
Este hecho se debe a que al sacar la media se atenúan -
las diferencias al tenerse un solo punto para cada día
de referencia, y esta atenuación se logró mejor en ra -
tón BALB debido a que los datos en la gráfica de disper
sión se pueden observar esparcidos en dos grupos más o
menos uniformes, mientras que en las de rata Wistar los
datos están mejor distribuidos dentro de un cierto ran -
go. La colonia CF1 vuelve a mostrar variaciones fuertes
en las gráficas de medias.

Como es posible apreciar, en todas las gráficas de

medias aparecen también las rectas de regresión lineal y la curva de regresión cuadrática para todos los grupos de especímenes. Cabe mencionar que de la regresión lineal se obtiene siempre una recta ideal o teórica, mientras que de la cuadrática se obtiene una curva casi recta debido a que esta regresión describe una parábola cuadrática.

Resulta evidente que el modelo cuadrático es el que mejor se apega a los resultados obtenidos experimentalmente ya que la desviación es mínima como se puede apreciar en el análisis de residuales (apéndice A); incluso hay puntos en donde el dato experimental y el teórico se superponen.

Todas las gráficas de medias presentan el mismo comportamiento: al principio los datos experimentales se encuentran por debajo de la recta o curva ideal; a medida que avanza el tiempo, los puntos comienzan a estar por encima de los datos teóricos, y al final vuelven a estar por debajo; esta desviación es mucho más marcada para las gráficas de regresión lineal que para las de regresión cuadrática. Este comportamiento se presenta debido a que los especímenes tienen primero una fase de adaptación posterior a la separación de la madre en la cual la ganancia de peso no es muy notable;

sin embargo, una vez que se han adaptado a su nueva forma de alimentación, comienzan a crecer aceleradamente - con notables ganancias de peso y finalmente llega un momento en el cual se estabilizan y los aumentos o disminuciones de peso son mínimos. A diferencia de esto, el modelo matemático considera siempre una fase de crecimiento y aumento de peso ideales que no se dan en la práctica.

Para la rata Wistar, las desviaciones son mayores en el caso de los machos que en el de las hembras, y esto se hace más palpable para la regresión cuadrática - (gráficas no. 3 y 8) que para la lineal (gráficas no. 2 y 7). En el caso del ratón BALB el ajuste es casi perfecto para las hembras en la gráfica de regresión cuadrática (gráfica no. 18), a excepción de una leve desviación en el inicio. En el caso de los machos, el ajuste es menos perfecto (gráfica no. 13). Para la regresión lineal (gráficas no. 12 y 17) se aprecia el mismo comportamiento que en la rata Wistar, sin embargo, las desviaciones están más atenuadas.

Nuevamente la cepa de ratón CF1 es la que muestra más variación tanto en la gráfica de regresión lineal - para machos y hembras (gráficas no. 22 y 27), como en la regresión cuadrática (gráficas no. 23 y 28) y el com

portamiento es menos uniforme en las hembras debido a que al tenerse sólo tres especímenes los resultados son menos representativos. No obstante ésto, la regresión cuadrática presenta menos variaciones que la lineal. Aquí se vuelve a apreciar que la colonia de ratón CF1 a pesar de ser la que presentó menor mortalidad, fue la que tuvo más problemas para dar resultados uniformes.

Por último tenemos las gráficas de logaritmo de la media del peso, las cuales, en todos los casos, refuerzan la elección del modelo cuadrático, ya que el comportamiento de los datos experimentales es muy apegado al teórico. Se observó nuevamente, en todos los casos, un comportamiento sigmoidal de los datos experimentales. Únicamente en el caso de los ratones BALB machos se observó una tendencia diferente al resto en la regresión cuadrática, (gráfica no. 15), ya que se obtuvo una curva diferente a todas las demás, la cual es de tipo exponencial, a pesar de que los datos fueron tratados como en el resto de las colonias.

Por lo demás, no se observó alguna otra variación notable, y de nuevo, las colonias que menor desviación mostraron fueron la BALB y la Wistar, mientras que la CF1 sí presentó variaciones más grandes respecto al modelo cuadrático, las cuales son a su vez, menores que las del modelo lineal. lo que confirma que esta cepa fue

la que menos se adaptó al experimento.

Como se puede apreciar en las tablas de análisis estadístico (apéndice A y B), se observó un comportamiento casi igual en todas las colonias, tanto para la regresión lineal como para la cuadrática en los datos obtenidos después del procesamiento, es decir, en S_y , S_{yx} y r_{yx} .

Para el caso de la colonia de ratas Wistar, se obtuvo un mejor resultado con la regresión cuadrática ya que el factor de correlación fue más aproximado a 1.00 tanto para machos como para hembras. Igualmente, la desviación estándar es menor para la regresión cuadrática en 0.5 unidades en el caso de los machos y en 0.05 unidades para las hembras (apéndice A y B).

Para el caso del ratón BALB, los resultados que se obtuvieron fueron exactamente iguales en machos y hembras para ambas regresiones. No se observó ninguna diferencia y esto se corrobora al ver las gráficas, en donde se aprecian comportamientos muy similares para ambas colonias. En el caso de la colonia CF1, la regresión cuadrática resultó mejor en los machos por una pequeña diferencia en el factor de correlación (de 0.01) y en la desviación estándar (de 0.02) (apéndice A y B). Sin embargo, para las hembras CF1 sucedió lo mismo que para la colonia BALB, es decir, los resultados fueron i

guales.

Es importante mencionar que en la colonia Wistar - la S_{yx} es muy pequeña en comparación con los pesos de los especímenes. Sin embargo en ratón BALB y CF1 sí puede considerarse este término muy grande, y esto se debe a que en ratas se tuvo mayor número de especímenes en el estudio, por lo cual es más representativo que en ratón BALB o CF1 en donde el número de especímenes es mucho menor y por ello la variación de los puntos reales hacia uno y otro lado de los teóricos es mayor.

En base a todo lo anterior se puede afirmar que a pesar de ser el modelo cuadrático más complejo que el lineal, describe mucho mejor el comportamiento de los especímenes con los que se trabajó.

CAPITULO VI:

CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES.

La realización de este trabajo cumplió con los objetivos planteados inicialmente ya que se obtuvieron las curvas de crecimiento tipo promedio para las cepas de rata Wistar, y de ratón BALB y CF1, las cuales relacionan la edad con el peso de una manera clara y sencilla mediante la utilización de especímenes desde su nacimiento hasta su madurez. Estos documentos resultan indispensables para los investigadores del área biomédica.

El control de los factores físicos ambientales presentes en el bioterio fue un punto determinante en la obtención de resultados confiables y consistentes, ya que al influir éstos sobre el crecimiento, también lo pueden hacer cuando los animales sean utilizados en algún experimento y de ahí su importancia.

El reporte de gráficas de dispersión y medias permiten al investigador observar las diferencias de manera global o específica por lo cual se considera de gran valía el presentarlas de manera conjunta.

Al cabo de seis tratamientos, se concluye que la -

gráfica de logaritmo resultó útil más bien para decidir el modelo matemático más adecuado que para otros efectos.

La regresión cuadrática auxiliada por el análisis estadístico y el análisis de residuales, fue el modelo matemático más adecuado para explicar el fenómeno observado, ya que al presentar la forma de parábola cuadrática, se ajusta mucho mejor al comportamiento real de los datos.

De todas las cepas trabajadas, la de rata Wistar - fue la más representativa, debido al número mayor de especímenes el cual influyó ampliamente en los resultados de r_{yx} y S_{yx} obtenidos.

La colonia de ratón CF1 hembras no fue muy representativa en este estudio debido al número tan pequeño de especímenes que llegaron al final del experimento.

APENDICES

APENDICE A.

ANALISIS DE RESIDUALES PARA LAS
REGRESIONES LINEAL Y CUADRATICA.

RATA WISTAR MACHOS.

EDAD (DIAS)	REGRESION LINEAL	REGRESION CUADRATICA
7	2.07	23.53
14	-10.08	2.53
21	-17.72	-12.56
28	- 6.65	- 7.69
35	-18.00	-23.84
42	- 8.92	-18.21
49	8.72	- 2.67
56	27.20	15.06
63	23.78	12.24
70	24.42	14.84
77	15.80	9.52
84	6.84	5.20
91	- 6.15	- 1.79
98	-17.68	- 5.97
105	-30.56	-10.15

RATA WISTAR HEMBRAS.

EDAD (DIAS)	REGRESION LINEAL	REGRESION CUADRATICA
7	- 9.72	14.44
14	-14.51	- 0.88
21	-17.53	-12.56
28	- 1.44	- 3.54
35	0.68	- 6.93
42	6.73	- 4.81
49	10.54	- 3.37
56	25.03	10.34
63	20.79	6.89
70	16.08	4.54
77	10.94	3.33
84	3.00	0.90
91	- 8.61	- 3.64
98	-16.13	- 2.50
105	-25.77	- 2.00

RATON BALB MACHOS.

EDAD (DIAS)	REGRESION LINEAL	REGRESION CUADRATICA
7	- 0.02	2.43
14	- 9.49	2.24
21	- 1.71	- 1.24
28	- 1.90	- 2.10
35	- 1.17	- 1.95
42	0.39	- 0.80
49	1.15	- 0.28
56	2.48	0.96
63	2.45	1.02
70	2.59	1.40
77	2.20	1.42
84	0.92	0.7
91	- 0.89	- 0.39
98	- 2.14	- 0.74
105	- 3.40	- 0.95

RATON BALB HEMBRAS .

EDAD (DIAS)	REGRESION LINEAL	REGRESION CUADRATICA
7	- 1.02	1.85
14	- 1.26	0.38
21	- 2.30	- 1.70
28	- 1.52	- 1.78
35	- 0.6	- 0.98
42	1.94	0.54
49	1.79	0.11
56	2.34	0.56
63	2.42	0.74
70	2.23	0.84
77	1.25	0.32
84	0.35	0.09
91	- 0.92	- 0.32
98	- 1.99	- 0.34
105	- 3.18	- 0.41

RATON CF1 MACHOS.

EDAD (DIAS)	REGRESION LINEAL	REGRESION CUADRATICA
7	-3.11	2.51
14	-3.62	-0.62
21	-4.15	-2.98
28	-1.41	-1.90
35	2.09	0.30
42	4.82	2.12
49	3.69	0.44
56	4.19	0.77
63	3.86	0.63
70	2.52	-0.13
77	1.44	-0.28
84	0.27	-1.04
91	-1.53	-0.24
98	-3.12	-4.78
105	-5.57	-0.20

RATON CF1 HEMBRAS .

EDAD (DIAS)	REGRESION LINEAL	REGRESION CUADRATICA
7	-3.59	1.10
14	-2.82	-0.14
21	-2.81	-1.84
28	-1.49	-1.91
35	2.35	0.85
42	4.53	2.25
49	3.95	1.21
56	2.44	0.54
63	2.99	0.26
70	1.96	-0.31
77	0.77	-0.73
84	-0.15	-0.56
91	-1.88	-0.90
98	-1.96	0.72
105	-4.22	0.47

APENDICE B.

APROXIMACION A UNA RECTA POR MINIMOS CUADRADOS.

RATA WISTAR MACHOS.

X (EDAD)	Y (PESO)	X ²	Y ²	XY	
7	10.65	49	113.42	74.55	
14	18.71	196	350.06	261.94	
21	31.28	441	978.44	656.88	
28	62.56	784	3913.75	1751.68	
35	71.42	1225	5100.82	2499.70	
42	100.71	1764	10142.50	4229.82	
49	138.56	2401	19198.87	6789.44	
56	177.25	3136	31417.56	9926.00	
63	194.04	3969	37651.52	12224.52	
70	214.90	4900	46182.01	15043.00	
77	226.49	5929	51297.72	17439.73	
84	237.74	7056	56520.31	19970.16	
91	244.96	8281	60005.40	22291.36	
98	253.64	9604	64333.25	24856.72	
105	260.97	11025	68105.34	27401.85	
TOTAL	840	2243.88	60760	455310.97	165417.35

$$\Sigma Y = a \Sigma X + nb$$

$$\Sigma XY = a \Sigma X^2 + b \Sigma X$$

Sustituyendo en las ecuaciones anteriores:

$$2243.88 = 840a + 15b$$

$$165417.85 = 60760a + 840b$$

Resolviendo el sistema de ecuaciones

$$a = 2.90 \quad b = -12.81$$

$$y = 2.90a - 12.81$$

$$S_y = \sqrt{\frac{1}{n-1} \Sigma Y^2 - \frac{1}{n(n-1)} (\Sigma Y)^2}$$

$$S_y = \sqrt{\frac{1}{14} (455310.97) - \frac{1}{15(14)} (5034997.45)}$$

$$S_y = 92.44$$

$$r_{yx} = a \sqrt{\frac{n\Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}{n\Sigma Y^2 - (\Sigma Y)^2}}$$

$$r_{yx} = 2.9 \sqrt{\frac{(15)(60760) - (705600)}{(15)(455310.97) - (5034977.45)}}$$

$$r_{yx} = 0.97$$

$$S_{yx} = \sqrt{100 - r_{yx}^2} S_{yx}$$

$$S_{yx} = \sqrt{100 - (0.97)^2 (92.44)}$$

$$S_{yx} = 3.60 \quad \text{DESVIACION ESTANDAR.}$$

RATA WISTAR HEMBRAS.

X (EDAD)	Y (PESO)	X ²	Y ²	XY	
7	10.44	49	108.99	73.08	
14	18.47	196	341.14	258.58	
21	28.28	441	799.76	593.88	
28	57.20	784	3271.84	1601.60	
35	72.15	1225	5205.62	2525.25	
42	91.03	1764	8286.46	3823.26	
49	107.66	2401	11590.68	5276.34	
56	134.98	3136	18219.60	7558.88	
63	143.57	3969	20612.34	9044.91	
70	151.69	4900	23009.86	10618.30	
77	159.38	5929	25401.98	12272.26	
84	164.27	7056	26984.63	13798.68	
91	165.48	8281	27383.63	15058.68	
98	170.79	9604	29169.22	16737.42	
105	173.98	11025	30269.04	18267.90	
TOTAL	840	1649.37	60760	230654.79	117509.02

Sustituyendo de igual manera que para la rata Wistar machos se tiene:

$$1649.37 = 840a + 15b$$

$$117509.90 = 60760a + 840b$$

$$a = 1.83 \quad b = 7.22$$

$$y = 1.83x + 7.22$$

Utilizando las mismas fórmulas indicadas en la tabla pasada se tiene:

$$S_y = 59.34$$

$$r_{yx} = 0.96$$

$$S_{yx} = 6.69$$

RATON BALB MACHOS.

X (EDAD)	Y (PESO)	X ²	Y ²	XY
7	3.05	49	9.30	21.35
14	4.32	196	18.66	60.48
21	5.53	441	30.58	116.13
28	7.47	784	55.80	209.16
35	10.31	1225	106.30	360.85
42	13.97	1764	195.16	586.74
49	16.83	2401	283.25	824.67
56	20.26	3136	410.47	1134.56
63	22.34	3969	499.08	1407.42
70	24.58	4900	604.18	1720.60
77	26.29	5929	691.16	2024.33
84	27.11	7056	734.95	2277.34
91	27.40	8281	750.76	2493.40
98	28.26	9604	798.63	2769.48
105	29.10	11025	846.81	3055.50
TOTAL 840	266.82	60760	6035.09	19061.91

Sustituyendo en las ecuaciones se tiene:

$$266.82 = 840a + 15b$$

$$19061.91 = 60760a + 840b$$

$$a = 0.30 \quad b = 0.97$$

$$y = 0.30x + 0.97$$

$$S_y = 9.59$$

$$r_{yx} = 0.96$$

$$S_{yx} = 9.53$$

RATON BALB HEMBRAS.

X (EDAD)	Y (PESO)	X ²	Y ²	XY	
7	3.66	49	13.40	25.62	
14	5.04	196	25.40	70.56	
21	5.62	441	31.58	118.02	
28	8.01	784	64.16	224.28	
35	11.09	1225	122.99	388.15	
42	14.71	1764	216.38	617.82	
49	16.18	2401	261.79	792.82	
56	18.34	3136	336.36	1027.04	
63	20.04	3969	401.60	1262.52	
70	21.47	4900	460.96	1502.90	
77	22.10	5929	488.41	1701.70	
84	22.82	7056	520.75	1916.88	
91	23.17	8281	536.85	2108.47	
98	23.72	9604	562.64	2324.56	
105	24.14	11025	582.74	2534.70	
TOTAL	840	240.11	60760	4626.01	16616.04

Sustituyendo en las ecuaciones se tiene:

$$240.11 = 840a + 15b$$

$$16616.04 = 60760a + 840b$$

$$a = 0.23 \quad b = 3.07$$

$$y = 0.23x + 3.07$$

$$S_y = 7.48$$

$$r_{yx} = 0.96$$

$$S_{yx} = 9.64$$

RATON CFI MACHOS.

X (EDAD)	Y (PESO)	X ²	Y ²	XY	
7	4.30	49	18.49	30.10	
14	5.79	196	33.52	81.06	
21	7.66	441	58.68	160.86	
28	12.61	784	159.01	353.08	
35	18.31	1225	335.26	640.85	
42	23.25	1764	540.56	976.50	
49	24.32	2401	591.46	1191.68	
56	27.03	3136	730.62	1513.68	
63	28.90	3969	835.21	1820.70	
70	29.77	4900	886.25	2083.90	
77	30.89	5929	954.19	2378.53	
84	31.92	7056	1018.89	2681.28	
91	32.33	8281	1045.23	2942.03	
98	32.94	9604	1085.04	3228.12	
105	32.70	11025	1069.29	3433.50	
TOTAL	840	342.72	60760	9361.70	23515.87

Sustituyendo en las ecuaciones se tiene:

$$342.72 = 840a + 15b$$

$$23515.87 = 60760a + 840b$$

$$a = 0.31 \quad b = 5.20$$

$$y = 0.31x + 5.20$$

$$S_y = 10.46$$

$$r_{yx} = 0.94$$

$$S_{yx} = 9.52$$

RATON CF1 HEMBRAS.

X (EDAD)	Y (PESO)	X ²	Y ²	XY	
7	3.30	49	10.89	23.10	
14	5.83	196	33.99	81.62	
21	7.60	441	57.76	159.60	
28	10.69	784	114.28	299.32	
35	16.29	1225	265.36	570.15	
42	20.23	1764	409.25	849.66	
49	21.42	2401	458.82	1049.58	
56	21.67	3136	469.59	1213.52	
63	23.99	3969	575.52	1511.37	
70	24.72	4900	611.08	1730.40	
77	25.29	5929	639.58	1947.33	
84	26.14	7056	683.30	2195.76	
91	26.17	8281	684.87	2381.47	
98	27.85	9604	775.62	2729.30	
105	27.36	11025	748.57	2872.80	
TOTAL	840	288.55	60760	6538.48	19614.98

Sustituyendo en las ecuaciones se tiene:

$$288.55 = 840a + 15b$$

$$19614.98 = 60760a + 840b$$

$$a = 0.25 \quad b = 5.12$$

$$y = 0.25x + 5.12$$

$$S_y = 8.40$$

$$r_{yx} = 0.93$$

$$S_{yx} = 9.63$$

APENDICE C.

APROXIMACION A UNA PARABOLA DE MINIMOS CUADRADOS.

RATA WISTAR MACHOS.

X (EDAD)	Y (PESO)	$x^{\circ} = X - \bar{X}$	$y^{\circ} = Y - \bar{Y}$	$x^{\circ 2}$	$x^{\circ}y^{\circ}$
7	10.65	-49	-138.94	2401	6808.06
14	18.71	-42	-130.88	1764	5496.96
21	31.28	-35	-118.31	1225	4140.85
28	62.56	-28	- 87.03	784	2436.84
35	71.42	-21	- 78.17	441	1641.57
42	100.71	-14	- 48.88	196	684.32
49	138.56	- 7	- 11.03	49	77.21
56	177.25	0	27.66	0	0
63	194.04	7	44.45	49	311.15
70	214.90	14	65.31	196	914.34
77	226.49	21	76.90	441	1614.90
84	237.74	28	88.15	784	2468.20
91	244.96	35	95.37	1225	3337.95
98	253.64	42	104.05	1764	4370.10
105	260.97	49	111.38	2401	5457.62
TOTAL	840			13720	39760.07
MEDIA	56				
		2243.88			
		149.59			

Utilizando la siguiente fórmula se calcula el fac-

tor a:

$$y = \frac{\sum x^{\circ}y^{\circ}}{\sum x^{\circ 2}} (x)$$

$$y = \frac{39760.07}{13720} (x) = 2.90x$$

Considerando que: $x^{\circ} = X - \bar{X}$ y $y^{\circ} = Y - \bar{Y}$ se

tiene:

$$Y - 149.59 = 2.90 (X - 56)$$

$$Y = 2.90x - 12.81$$

$$a = 2.90 \quad b = -12.81$$

Adicionalmente se calculan S_y , r_{yx} y S_{yx} utilizando las mismas fórmulas que para la regresión anterior. Para esta colonia los resultados obtenidos fueron los siguientes:

$$S_y = 92.44$$

$$r_{yx} = 0.99$$

$$S_{yx} = 3.18$$

RATA WISTAR HEMBRAS.

X (EDAD)	Y (PESO)	$x^{\circ} = X - \bar{X}$	$y^{\circ} = Y - \bar{Y}$	$x^{\circ 2}$	$x^{\circ}y^{\circ}$
7	10.44	-49	-99.52	2401	4876.48
14	18.47	-42	-91.49	1764	3842.58
21	28.28	-35	-81.68	1225	2858.80
28	57.20	-28	-52.76	784	1477.28
35	72.15	-21	-37.81	441	794.01
42	91.03	-14	-18.93	196	265.02
49	107.66	-7	-2.30	49	16.10
56	134.98	0	25.02	0	0
63	143.57	7	33.61	49	235.27
70	151.69	14	41.73	196	584.22
77	159.38	21	49.42	441	1037.82
84	164.27	28	54.31	784	1520.68
91	165.48	35	55.52	1225	1943.20
98	170.79	42	60.83	1764	2554.86
105	173.98	49	64.02	2401	3136.98
TOTAL	840			13720	25143.30
MEDIA	56				

$$y = \frac{25143.30}{13720} (x) = 1.83x$$

$$Y - 109.96 = 1.83 (X - 56)$$

$$Y = 1.83x + 7.48$$

$$a = 1.83 \quad b = 7.48$$

$$S_y = 59.34$$

$$r_{yx} = 0.97$$

$$S_{yx} = 6.64$$

RATON BALB MACHOS.

X (EDAD)	Y (PESO)	$x^{\circ} = X - \bar{X}$	$y^{\circ} = Y - \bar{Y}$	$x^{\circ 2}$	$x^{\circ}y^{\circ}$
7	3.05	-49	-14.74	2401	722.26
14	4.32	-42	-13.47	1764	565.26
21	5.53	-35	-12.26	1225	429.10
28	7.47	-28	-10.32	784	288.96
35	10.31	-21	- 7.48	441	157.08
42	13.97	-14	- 3.82	196	53.48
49	16.83	- 7	- 0.96	49	6.72
56	20.26	0	2.47	0	0.00
63	22.34	7	4.55	49	31.85
70	24.58	14	6.79	196	95.06
77	26.29	21	8.50	441	178.50
84	27.11	28	9.32	784	260.96
91	27.40	35	9.61	1225	336.35
98	28.26	42	10.47	1764	439.74
105	29.10	49	11.31	2401	554.19
TOTAL	840			13720	4119.99
MEDIA	56				
		266.82			
		17.79			

$$y = \frac{4119.99}{13720} (x) = 0.30x$$

$$Y - 17.79 = 0.30 (X - 56)$$

$$Y = 0.30X + 0.99$$

$$a = 0.30 \quad b = 0.99$$

$$S_y = 9.59$$

$$r_{yx} = 0.98$$

$$S_{yx} = 9.53$$

RATON BALB HEMBRAS.

X (EDAD)	Y (PESO)	$x^{\circ} = X - \bar{X}$	$y^{\circ} = Y - \bar{Y}$	$x^{\circ 2}$	$x^{\circ} y^{\circ}$
7	3.66	-49	-12.35	2401	605.15
14	5.04	-42	-10.97	1764	460.74
21	5.62	-35	-10.39	1225	363.65
28	8.01	-28	- 8.00	784	224.00
35	11.09	-21	- 4.92	441	103.32
42	14.71	-14	- 1.30	196	18.20
49	16.18	- 7	0.17	49	1.19
56	18.34	0	2.33	0	0.00
63	20.04	7	4.03	49	28.21
70	21.47	14	5.46	196	76.44
77	22.10	21	6.09	441	127.89
84	22.82	28	6.81	784	190.68
91	23.17	35	7.16	1225	250.60
98	23.72	42	7.71	1764	323.82
105	24.14	49	8.13	2401	398.37
TOTAL	840			13720	3169.88
MEDIA	56				16.01

$$y = \frac{3169.88}{13720} = 0.23x$$

$$Y - 16.01 = 0.23 (X - 56)$$

$$Y = 0.23X + 3.13$$

$$a = 0.23 \quad b = 3.13$$

$$S_y = 7.48$$

$$r_{yx} = 0.96$$

$$S_{yx} = 9.64$$

RATON CF1 MACHOS.

X (EDAD)	Y (PESO)	$x^{\circ} = X - \bar{X}$	$y^{\circ} = Y - \bar{Y}$	$x^{\circ 2}$	$x^{\circ}y^{\circ}$
7	4.30	-49	-18.55	2401	908.95
14	5.79	-42	-17.06	1764	716.52
21	7.66	-35	-15.19	1225	531.65
28	12.61	-28	-10.24	784	286.76
35	18.31	-21	- 4.54	441	95.34
42	23.25	-14	0.40	196	-5.60
49	24.32	- 7	1.47	49	-10.29
56	27.03	0	4.18	0	0.00
63	28.90	7	6.05	49	42.35
70	29.77	14	6.92	196	96.88
77	30.89	21	8.04	441	168.84
84	31.92	28	9.07	784	253.96
91	32.33	35	9.48	1225	331.80
98	32.94	42	10.09	1764	413.78
105	32.70	49	9.85	2401	482.65
TOTAL	840	342.72		13720	4323.59
MEDIA	56	22.85			

$$y = \frac{4323.59}{13720} x = 0.32x$$

$$Y - 22.85 = 0.32 (X - 56)$$

$$Y = 0.32X + 4.93$$

$$a = 0.32 \quad b = 4.93$$

$$S_y = 10.46$$

$$r_{yx} = 0.95$$

$$S_{yx} = 9.50$$

RATON CF1 HEMBRAS.

X (EDAD)	Y (PESO)	$x^o = X - \bar{X}$	$y^o = Y - \bar{Y}$	x^{o2}	$x^o y^o$
7	3.30	-49	-15.94	2401	781.06
14	5.83	-42	-13.41	1764	563.22
21	7.60	-35	-11.64	1225	407.40
28	10.69	-28	- 8.55	784	239.40
35	16.29	-21	- 2.95	441	61.95
42	20.23	-14	0.99	196	-13.86
49	21.42	- 7	2.18	49	-15.26
56	21.67	0	2.43	0	0.00
63	23.99	7	4.75	49	33.25
70	24.72	14	5.48	196	76.72
77	25.29	21	6.05	441	127.05
84	26.14	28	6.90	784	193.20
91	26.17	35	6.93	1225	242.55
98	27.85	42	8.61	1764	361.62
105	27.36	49	8.12	2401	397.88
TOTAL	840			13720	3456.18
MEDIA	56				
		288.55			
		19.24			

$$y = \frac{3456.18}{13720} x = 0.25x$$

$$Y - 19.24 = 0.25 (X - 56)$$

$$Y = 0.25X + 5.24$$

$$a = 0.25 \quad b = 5.24$$

$$S_y = 8.40$$

$$r_{yx} = 0.93$$

$$S_{yx} = 9.63$$

BIBLIOGRAFIA.

B I B L I O G R A F I A .

- 1.- Anderson, C., Leory, S., Manning, P., "Rat-bite fever in animal research laboratory personnel", Laboratory Animal Science XXXIII, 3 (June,1983) pp: 292-294.
- 2.- Baker, J., Lindsey, J., Weisbroth, S., "The Laboratory Rat", Housing to Control Research Variables I; Animal Medicine Sciences, Nueva York: Academic Press, 1979; pp: 170-186.
- 3.- Barker, D., "The Laboratory Rat", Reproduction and Breeding I; Animal Medicine Sciences; Nueva York: Academic Press, 1979; pp: 158-166.
- 4.- Bhatt, P., Jacoby, R., "An inexpensive containment laboratory for mouse pox research", Laboratory Animal Science XXXIII, 5 (October,1983); pág.: 495.
- 5.- Bonilla, L., "Enfermedades crónicas respiratorias de la rata de laboratorio", (Tesis de Maestría: México, D.F.; Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, 1986).
- 6.- Brady, A., Abee, C., "Hazards associated with laboratory animal caging", Laboratory Animal Science XXXV, 5 (October,1985); pág.: 542.

- 7.- Cunliffe-Beamer, L., Les, E., "Effectiveness of pressurized individually ventilated (PIV) cages in reducing transmission of Pneumonia virus in mice (PVM), Laboratory Animal Science XXXIII, 5 (October, 1983), pág.: 495.
- 8.- Daniel, W., "Bioestadística"; 3ª edición; México, D.F.: Editorial Limusa, 1982; pp: 243-261.
- 9.- de Ward, J., "An orientation program for animal care technicians", Laboratory Animal Science - XXXV, 5 (October, 1985), pág.: 542.
- 10.- Escott, M., Rowen, G., "A food pelleter for experimental diets for rats", Laboratory Animal Science XXXIII, 4 (August, 1983); pp: 366-367.
- 11.- Flurer, C., Scheid, R., Zucker, H., "Evaluation of a pelleted diet in a colony of marmosets and tamarins", Laboratory Animal Science XXXIII, - 3 (June, 1983), pp: 264-267.
- 12.- Foster, H., Otis, A., "The Mouse in Biomedical Research", Management and Design of Breeding Facilities III; Animal Medicine Sciences, Nueva York: Academic Press, 1983; pp: 18-33.
- 13.- Fox, R., Tucker, S., "Atropine esterase status of laboratory mice", Laboratory Animal Science XXXIV, 4 (August, 1984); pp: 381-382.

- 14.- Frith, Ch., Highman, B., Burger, G., Sheldon, W.,
"Spontaneous lesions in virgin and retired breeder
BALB/c and C57BL/6 mice", Laboratory Animal Science
XXXIII, 3 (June,1983); pp: 273-286.
- 15.- Geistfeld, J., "Influence of feed form and caging
on dental pathology in young male rats", Laborato-
ry Animal Science XXXIV, 5 (October,1984); pág.:
512.
- 16.- Gibson, S., Williford, C., Owen, D., Raisbeck, M.,
McLaughlin, R., Wagner, J., "Organophosphate toxic-
ity in rats associated with contaminated bedding",
Laboratory Animal Science XXXV, 5 (October,1985);
pág.: 527.
- 17.- Greenman, D., Bryant, P., Kodell, R., Sheldon, W.,
"Relationship of mouse body weight and food consump-
tion/wastage to cage shelf level", Laboratory Ani -
mal Science XXXIII, 6 (December,1983); pp: 555-558.
- 18.- Grossie, V., Castro, Ch., Ota, D., "Modification
of polycarbonate cages for individual housing of
mice" Laboratory Animal Science XXXIII, 4 (August,
1983); pág.: 365.
- 19.- Jacobs, H., van Pelt, L., Dunlop, B., "Atypical
gnawing and cage destructive behavior in one strain
of laboratory rat", Laboratory Animal Science XXXIV

- 3 (June,1984); pp: 311-312.
- 20.- Jepsen, P., Pinto, C., Warnick, C., Phelen, D.,
"Environmental monitoring and validation of new
animal research facilities", Laboratory Animal -
Science XXXIII, 5 (October,1983); pág.: 505.
- 21.- Keene, J., Sansone, E., "Airborne transfer of con-
taminants in ventiled spaces", Laboratory Animal
Science XXXIV, 5 (October,1984); pp: 453-457.
- 22.- Kehoe, D., Dickie, S., McKenzie, K., "A comparison
of data obtained from the first and the second ge-
nerations of multigeneration reproduction studies
in rats", Laboratory Animal Science XXXIII, 5 (Oc-
tober,1983); pág.: 505.
- 23.- Keller, G., Mattingly, S., Knapke, F., "A forced -
air individually ventiled caging system for rodents",
Laboratory Animal Science XXXIII, 6 (December,1983);
pp: 580-582.
- 24.- Knapka, J., "The Mouse in Biomedical Research", Nu-
trition III; Animal Medicine Sciences; Nueva York:
Academic Press, 1983; pp: 52-64.
- 25.- Les, E., "Pressurized individually ventiled (PIV)
and individually exhausted caging for the laborato-
ry mice", Laboratory Animal Science XXXIII, 5 (Co-

- tober, 1983); pág.: 495.
- 26.- Levine, J., Lage, A., "House mouse mites infesting laboratory rodents", Laboratory Animal Science - XXXIV, 4 (August, 1984); pp: 393-394.
- 27.- Lindsey, J., "The Laboratory Rat", Historical Foundations I, Animal Medicine Sciences; Nueva York: Academic Press, 1979; pp: 2, 3, 6, 11.
- 28.- Moore, D., MacKenzie, W., Diepel, F., Hansen, T., "Contagious ecthyma in lambs and laboratory personnel", Laboratory Animal Science XXXIII, 5 (October, 1983); pp: 172-174.
- 29.- Morton, D., Griffiths, P., "The recognition and measurement of pain and distress in laboratory animals", Laboratory Animal Science XXXV, 5 (October, 1985); pág.: 540.
- 30.- Porter, W., Bitter, Y., Strandberry, J., Charache, p., "Absence of therapeutic blood concentrations of tetracycline in rats after administration in drinking water", Laboratory Animal Science XXXV, 1 (February, 1985); pp: 71-75.
- 31.- Raynor, T., Doyle, D., "A water valve hole cover plate for reducing traumatic death in mice", Laboratory Animal Science XXXIII, 4 (August, 1983); pág.: 364.

- 32.- Raynor, T., Parker, G., Hamm, T., "An evaluation of caging system for containing chemicals in animal feeding studies", Laboratory Animal Science XXXIII, 5 (October, 1983); pág.: 500.
- 33.- Schaerdel, A., White, W., Lang, C., Dvorchik, B., Bohner, K., "Localized and systemic effects of environmental ammonia in rats", Laboratory Animal Science XXXIII, 1 (February, 1983) pp: 101-105.
- 34.- Shirley, B., "The food intake of rats during pregnancy and lactation", Laboratory Animal Science - XXXIV, 2 (April, 1984); pp: 169-172.
- 35.- Silverman, J., Adams, J., "N-Nitrosamines in laboratory animal feed and breeding", Laboratory Animal Science XXXIII, 1 (February, 1983); pp: 46-50.
- 36.- Small, J., "The Mouse in Biomedical Research", Environmental and Equipment Monitoring III; Animal - Medicine Sciences; Nueva York: Academic Press, 1983, pp: 84-97.
- 37.- Thigpen, S., Ross, P., "Viral cross contamination of rats maintained in a fabric-walled mass air flow system", Laboratory Animal Science XXXIII, 5 (October, 1983); pp: 446-450.

- 38.- Thorne, P., Lightfoot, E., Gonder, J., Will, J.,
"Animal chamber for in vivo testing of toxic gases",
Laboratory Animal Science XXXIII, 5 (October,1983);
pp: 476-480.
- 39.- Valrick, J., Rodleen, C., Schemehorn, B., Stookey,
G., "Dietary influences on stain accumulation on the
macillary molar teeth of laboratory rats", Laborato-
ry Animal Science XXXIV, 5 (October,1984); pág.: 521.
- 40.- van Bekkun, D., Brouwer, A., Zurcher, C., Heidt, P.,
"Applicability of solidified water (hydrogel) in la
boratory animal care", Laboratory Animal Science
XXXIII, 3 (June,1983); pp: 295-298.
- 41.- van Hoosier, G., Hammond, B., Johnson, D., Dennis,
M., "A pilot program on principles of animal expe-
rimentation for research technicians", Laboratory
Animal Science XXXV, 5 (October,1985); pág.: 541.
- 42.- White, W., Hughes, H., Singh, S., Lang, C., "Eva-
luation of a cubicle containment system in preven
ting gaseous and particulate airborne cross conta
mination", Laboratory Animal Science XXXIII, 6 -
(december,1983); pp: 571-576.
- 43.- Wittmier, J., James, Ch., "A computerized system
for heterinary medical records", Laboratory Animal
Science XXXIII, 1 (February,1983); pp: 101-105.

- 44.- Wostman, B., Larkin, C., Moriarty, A., Bruckner-Kardoss, E., "Dietary intake, energy metabolism and excretory losses of adult male germfree Wistar Rats", Laboratory Animal Science XXXIII, 1 - (February,1983); pp: 46-50.
- 45.- Wu, D., Joiner, G., Mc Farland, A., "A forced-air ventilation system for rodent cages", Laboratory Animal Science XXXV, 5 (October,1985); pp: 499-504.