

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS
“DR. SERAFÍN RUIZ DE ZÁRATE RUIZ”
SANTA CLARA, VILLA CLARA

COMUNICACIÓN

ÍNDICES HEMOQUÍMICOS EMPLEADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DE NUESTRA RATA DE LABORATORIO SPRAGUE DAWLEY

Por:

Dr. José Luis Molina Martínez¹, MSc. Yisel González Madariaga² y MSc. Carmen Sánchez Álvarez³

1. Médico veterinario. Instructor Principal de Cirugía Experimental. Unidad Toxicológica Experimental. ISCM-VC. e-mail: josemol@medscape.com
2. Investigadora agregada. Instructora adjunta Unidad Toxicológica Experimental. ISCM-VC. e-mail: yiselgm@capiro.vcl.sld.cu
3. Instructora adjunta. Unidad Toxicológica Experimental. ISCM-VC. e-mail: csa@capiro.vcl.sld.cu

Descriptorios DeCS:

RATAS SPRAGUE-DAWLY/sangre
LABORATORIOS/normas
VALORES DE REFERENCIA

Subject headings:

RATS, SPRAGUE-DAWLEY/blood
LABORATORIES/standards
REFERENCE VALUES

La utilización masiva de los modelos experimentales *in vivo* trae como consecuencia lógica la necesidad de poseer un mejor conocimiento sobre las características biológicas de estos. Para ello, es necesario disponer de un entrenamiento adecuado en las técnicas, que permita conocer las características fisiológicas que presenta cada especie, raza o línea de los animales de laboratorio, y su correspondiente caracterización hematológica y hemoquímica. Establecer los valores normales en los citados parámetros es complicado, por las variables que pueden influir en la respuesta de las especies empleadas como modelos biológicos¹.

De ello se deduce que los estándares normales y usualmente empleados en los experimentos y ensayos biomédicos son de gran utilidad en los controles de calidad practicados a los animales de laboratorio, al servicio de la ciencia y la salud humana y animal. Ellos, por sí solos, sirven como medio de evaluación y apoyo para medir y determinar las alteraciones que se presentan a consecuencia de las manipulaciones propias del experimento. Es obvio que la mayoría de los animalarios y demás centros de experimentación animal a nivel mundial dan a conocer los resultados y análisis ejecutados en los modelos biológicos correspondientes y utilizan en los controles de calidad y experimentales, cuestiones y datos de incomparable valor, pues en muchos casos, factores como las condiciones climáticas y otros pueden influir, e incluso determinar, las fluctuaciones que se producen en las constantes objeto de estudio (fisiológicas y biológicas).

El presente trabajo se realizó, no solo como investigación preliminar de monitorización o estandarización de los índices hematológicos y bioquímicos más importantes en el control de calidad de nuestra línea de rata Sprague Dawley (SD), sino que, además, se hizo un pormenorizado análisis de todos aquellos factores que influyen en los resultados de los citados estudios, así como las causas más frecuentes de alteraciones en estos estándares, con independencia de la especie, línea, estado de salud y método analítico empleado; valoramos,

además, las posibles causas de error en las técnicas, lo cual nos permitió conocer la calidad de nuestros biomodelos y caracterizar las colonias de ratas con que trabajamos.

Estandarizar y establecer los parámetros hematológicos y bioquímicos normales es importante, por las variables que pueden influir en la respuesta de los animales de laboratorio. Se deben necesariamente realizar los citados estudios, de forma sistemática, que evalúen nuestras actuales colonias de roedores y demás modelos biológicos, y mantener un sistema periódico al azar de muestreo en los mismos, ya que estos son un índice del estado nutricional y hasta cierto grado, del estado inmunológico de la colonia, que reflejan, además, la respuesta de los animales a los agentes patógenos.

Los animales de laboratorio son modelos importantes en las evaluaciones farmacológicas y toxicológicas en la fase preclínica; por ello, deberán someterse a investigaciones hematológicas, no solo para caracterizar o chequear sus valores normales, sino para determinar el efecto del medicamento en fase de prueba o ensayo sobre el sistema hemopoyético. Un laboratorio de animales de experimentación, debe disponer de métodos hematológicos para evaluar los parámetros más usados en la monitorización, control de calidad y caracterización de la colonia en estudio².

El esquema de trabajo de nuestra investigación se diseñó en dos etapas ejecutadas en laboratorios diferentes y se estimaron los dos sistemas de unidades: tradicional e internacional; en las mismas fueron determinados y comparados los índices más usados y estimados en el control de calidad de nuestros modelos experimentales, tales como: hemoglobina (Hb), hematócrito (Hto), leucocitos (conteo global y diferencial), proteínas totales (PT) y TGP, obtenidos a partir de técnicas analíticas desiguales en ambas etapas. Estos y otros métodos de evaluación hematológica son los que generalmente se utilizan en los exámenes de laboratorio, y se seleccionan, preferiblemente, los micrométodos.

En la primera etapa, nuestros resultados fueron comparados con los estándares internacionales referentes a animales de laboratorio, como los de la IFFA CREDO³, Consejo Canadiense de Protección de Animales de Laboratorio⁴ y se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los parámetros objeto de estudio, con más énfasis en la Hb, Hto, eritrocitos que resultan inferiores a las cifras de referencia citadas anteriormente. Estos resultados pueden derivarse de una anemia hipocrómica por las características del cuadro hemático y los patrones que se observan afectados; en esta etapa, los animales sufrieron cambios bruscos en la de alimentación, no se les suministró complejo B como establecen las normas técnicas y, además, el pienso consumido fue de menor calidad desde el punto de vista organoléptico y nutricional; debe tenerse en cuenta que las deficiencias nutritivas y metabólicas de la rata no se presentan en forma aguda, sino en un plazo más prolongado.

Realizamos análisis clínicos y parasitológicos, donde no se encontraron alteraciones que expliquen la anemia. Además, no se suministró ningún antibiótico o sulfa por vía oral que pudiera inhibir el crecimiento de la flora microbiana del tracto intestinal y con ello bloquear la síntesis de vitaminas del grupo B y vitamina K, tan necesarias a las exigencias del elevado metabolismo de la rata.

En la segunda etapa, al comparar los parámetros estudiados con los de referencia de la IFFA CREDO³ y del Consejo Canadiense de Protección de Animales⁴, se halló que existen diferencias significativas ($p < 0,05$). En esta etapa, los animales consumieron pienso de buena calidad (nutricional y organoléptica), por lo que pensamos que la causa de esta diferencia no sea debido a problemas nutricionales, sino a las técnicas analíticas y a los equipos empleados en nuestro laboratorio clínico. Los hallazgos encontrados deben servir de referencia para estudios ulteriores en nuestros vivarios. Asimismo, es necesario señalar que otros parámetros no clínicos (factores físicos) pudieran incidir sobre la población en estudio; entre estos se pueden citar: los ruidos anormales, pues niveles altos (por encima de 68 dB) pueden inducir estrés en los roedores de laboratorio, afectar la histopatología, la química clínica, las adrenales, la reproducción y producirse también un decrecimiento de los eosinófilos circulantes en ratas⁵.

Algunos investigadores destacan el papel de otros factores. Entre estos, se citan la atención a los animales y las influencias climáticas sobre la fórmula sanguínea normal, con cambios de estación, época del año (invierno-verano), el régimen de alimentación y de tratamiento zootécnico, la temperatura y la humedad relativa, la hora del día, estrés alimentario y térmico, así como las variaciones fisiológicas debidas a sexo, estadio del ciclo estral, ciclo circadiano, edad, actividad muscular, procesos digestivos, ejercicios, entre otros⁶.

En los animales de laboratorio destinados a toxicología, evaluaciones preclínicas y otras investigaciones biomédicas en general, se han observado muchas causas de variaciones significativas en los valores clínicos. En nuestras condiciones y en el presente estudio de monitorización y control de calidad de las colonias de animales estudiadas, deben estar influyendo otros factores, como: la anestesia por inhalación, que provoca estrés, y los anticoagulantes líquidos añadidos sin medida o con errores de concentración a la muestra en estudio; esto pudiera provocar un aumento en el volumen de la misma e interferir en los resultados finales. Entre las causas de estrés de efecto negativo más pronunciado en los valores y resultados que se evalúan en nuestro trabajo se citan: las condiciones de vida, sexo, atención médico-veterinaria, condiciones ambientales (microambiente y macroambiente), los ciclos de luz, las técnicas de eutanasia, el excesivo movimiento de las cajas, la carencia de agua fresca, alimentos, cama o lecho impropio, movimiento inadecuado de un cubículo a otro y hacia la sala de necropsia, y la aplicación incorrecta de la anestesia.

En general, los estudios bioquímicos pudieran estar afectados por los siguientes factores⁷:

- Ø Estrés
- Ø Tiempo de toma de la muestra
- Ø Estabilidad de la muestra en el tiempo con relación a la temperatura de conservación
- Ø Variaciones individuales de la especie
- Ø Estado de salud de los animales
- Ø Especificidad de la enzima en relación con la especie
- Ø Selección del parámetro adecuado en relación con el órgano o sistema en estudio
- Ø Especificidad de sexo referente al nivel proteico total (ratas hembras mayor que ratas machos)

Los animales de laboratorio, como lo demuestra nuestro estudio, la propia investigación científica básica y la experiencia diaria en los vivarios y demás centros de experimentación biomédica de Cuba y el mundo, deben ser sometidos a chequeos clínicos y de laboratorio sistemático y periódico para delimitar si las alteraciones en sus parámetros o en su estado general de salud son debidas a una infección clínica latente, a la manipulación experimental o a los factores que hemos explicado en detalles. Si esto no se realiza debidamente, como exigen las normas técnicas de control de la calidad de nuestros biomodelos, aparecerán errores de interpretación con desviaciones y resultados falsos al finalizar el experimento, sin poder delimitar con precisión y criterio sólido la causa verdadera que lo produjo, lo cual conduciría inevitablemente a errores y poca confiabilidad en los ensayos realizados.

Por esto, una colonia de animales de experimentación debe ser objeto de estudio constante. La acumulación y el análisis de estos resultados, en el transcurso de los años, nos permite definir los límites normales en los que varían estos parámetros. Los valores medios de los índices evaluados y sus correspondientes estadígrafos sirven de base a los diagnósticos clínicos requeridos ante la presencia de cualquier alteración patológica en nuestras actuales y futuras colonias de animales.

Las enfermedades naturales deben ser comprendidas, controladas y eliminadas, si se desean resultados dignos de confianza. Por tanto, las infecciones latentes o subclínicas que se transforman en infecciones francas, bajo los efectos de un estrés, pueden invalidar los resultados del experimento, si no son controladas y monitorizadas con sistematicidad.

El estrés que resulta de realizar métodos de extracción de sangre incorrectos, falta de habilidad en los procedimientos seleccionados o manipulaciones inadecuadas, además de provocar dolor innecesario al animal, alteran su fisiología normal y ocasionan gran variabilidad de respuestas en las constantes objeto de estudio, que dificultan la interpretación de los datos y medidas obtenidas. Además, en una investigación hematológica se necesita un adecuado y completo conocimiento de la anatomía y fisiología del modelo biológico utilizado.

Referencias bibliográficas

1. Castillo Menéndez R. Sistemas de reproducción y tecnología asociadas en los animales de laboratorio. En: Animales de laboratorio en las investigaciones biomédicas. La Habana: Ciencias Médicas; 1985. p. 57-121.
2. National Research Council Guide for the care and the use of laboratory animals. Institute of Laboratory Animals Resources; 1996.
3. Iffa Credo "Reference values of SD rats. USA: Iffa Credo Laboratorios; 1998.
4. Consejo Canadiense de Protección de Animales. Manual sobre el cuidado y uso los animales de experimentación vol.I. 2^{da} ed. Ottawa: Consejo Canadiense de Protección de los Animales; 1998.
5. Wallace animal care and facilities. In: Principles and methods of toxicology. 3^{ed} ed. New York: Raven Press; 1994.
6. Instituto de Medicina Veterinaria. Influencias climáticas y de manejo sobre la fórmula sanguínea normal en animales domésticos. La Habana: Laboratorio Central de Diagnóstico; 1985.
7. Standard operating procedures on toxicology University of Calgary Canadá 1996. Canadá: University Toxicology; 1997.