

Criterios para la determinación del tamaño de muestra en estudios con biomodelos.

MVZ. Jessica Magali López Serrano
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

1. Introducción

La adecuada determinación del tamaño de muestra constituye un componente fundamental del diseño experimental, ya que influye directamente en la validez y confiabilidad de los resultados obtenidos, así como en la replicabilidad y reproducibilidad de cualquier estudio. Su justificación se sustenta en criterios estadísticos, el diseño experimental y las variables de interés (Dell *et al.*, 2002; Festing *et al.*, 2018).

En investigaciones que involucran biomodelos, la selección del número de animales debe realizarse en apego al principio de las 3R (Reemplazo, Reducción y Refinamiento), empleando únicamente la cantidad mínima necesaria para alcanzar los objetivos científicos, sin comprometer la calidad de los resultados ni el bienestar animal (Velarde, 2026).

Durante la experimentación con biomodelos se pueden presentar dificultades al determinar el tamaño de muestra. El seleccionar un tamaño de muestra mínimo, incrementa el error y por tanto limita la detección de resultados significativos o incluso podría no detectar diferencias estadísticamente significativas. Por el contrario, seleccionar un tamaño de muestra excesivo, implica un uso innecesario de biomodelos y constituye un problema ético (Festing, 2018).

Las directrices ARRIVE 2.0 establecen que los estudios con biomodelos deben reportar las características de estos incluyendo la especie, cepa o línea genética, sexo, edad o etapa de desarrollo y peso. Estos atributos contribuyen a la variación entre individuos y, por lo tanto, son fuentes de variabilidad de cada animal que deben de controlarse, eliminarse o aleatorizarse. Además, recomiendan también tener el registro de información relevante como el estado sanitario, estado inmunitario, modificaciones genéticas, el genotipo y cualquier procedimiento previo al que hayan sido sometidos los biomodelos a utilizar (Percie du Sert *et al.*, 2020).

Estos elementos pueden constituir fuentes de variabilidad experimental o factores de confusión que deben identificarse y, cuando sea posible, controlarse mediante criterios de inclusión y exclusión, aleatorización, estratificación, bloqueo o su incorporación como factores del diseño experimental. Estas fuentes de variación, tanto intrínsecas como extrínsecas, pueden afectar la respuesta experimental, por lo que su identificación y control deben considerarse durante la planificación del estudio y la estimación del tamaño de muestra (Arifin & Zahiruddin, 2017).

2. Planificación para determinar el tamaño de muestra

Para determinar el tamaño de muestra en un proyecto experimental es necesario considerar las características del proyecto, la pregunta de investigación y el tipo de resultado que se desea evaluar. Una vez definida la pregunta de investigación y el tipo de estudio, pueden seguirse una serie de pasos que orienten la determinación del número de biomodelos necesarios para dicho proyecto (Dell *et al.*, 2002; Schmidt *et al.*, 2018).

2.1 Formular la pregunta de investigación: La pregunta debe establecer con claridad qué se pretende conocer o demostrar mediante el experimento. Por ejemplo: ¿el tratamiento X produce una disminución de la concentración de glucosa en comparación con el grupo control? (Schmidt *et al.*, 2018).

2.2 Establecer la hipótesis nula y la hipótesis alternativa: La hipótesis nula plantea, de manera general, que no existe una diferencia o efecto entre los grupos que se comparan. La hipótesis alternativa plantea que sí existe una diferencia o efecto. Dependiendo de la pregunta de investigación, la hipótesis alternativa puede ser *unilateral*, cuando se establece una dirección específica del efecto, o *bilateral*, cuando se considera relevante detectar una diferencia en cualquiera de las dos direcciones (Schmidt *et al.*, 2018).

2.3 Seleccionar la variable de resultado principal y el análisis estadístico correspondiente: Debe identificarse cuál será la variable principal utilizada para responder la pregunta de investigación y determinar qué tipo de variable es. Por ejemplo, el peso corporal y la actividad enzimática son variables cuantitativas continuas, mientras que la presencia o ausencia de una enfermedad constituye una variable dicotómica.

La selección de la prueba estadística dependerá de la variable de resultado, el número de grupos, el diseño experimental y la pregunta que se pretende responder.

3. Identificación del tipo de proyecto

Antes de realizar cualquier cálculo, es importante identificar qué tipo de estudio se pretende realizar. Dell *et al.* (2002) describen tres tipos de proyectos:

- I. Proyectos piloto o exploratorios: Donde existe información limitada o insuficiente para realizar una estimación precisa del tamaño de muestra.
- II. Proyectos en los que el resultado depende de alcanzar o no un objetivo determinado: Donde se evalúa la presencia o ausencia de una respuesta, el desarrollo de una enfermedad o supervivencia.
- III. Proyectos destinados a probar una hipótesis formal: Para detectar estadísticamente una diferencia o efecto previamente establecido.

3.1 Proyectos piloto o exploratorios

En algunos proyectos no existe suficiente información previa para determinar con precisión el tamaño del efecto o la variabilidad de la variable que se desea estudiar. En estos casos, puede realizarse un proyecto piloto o exploratorio con un número reducido de biomodelos, siempre que exista una justificación científica y ética para ello (Dell *et al.*, 2002).

El propósito de un proyecto piloto no necesariamente es demostrar de manera definitiva una hipótesis. Puede utilizarse para obtener información que permita planificar posteriormente un estudio confirmatorio. Entre sus objetivos se encuentran:

- Determinar si la variable de interés puede medirse de manera adecuada.
- Identificar la variabilidad de los resultados.
- Evaluar si el procedimiento experimental es viable.
- Obtener una estimación preliminar de la magnitud del efecto.
- Obtener una estimación aproximada de la desviación estándar.
- Evaluar la viabilidad logística del proyecto.

La información obtenida durante el proyecto piloto puede utilizarse posteriormente para realizar una estimación más fundamentada del tamaño de muestra requerido para un estudio definitivo.

3.2 Proyectos en los que el resultado depende de alcanzar o no un objetivo determinado

En este tipo de proyectos, el número de biomodelos puede depender de la probabilidad de éxito del procedimiento que se pretende realizar. Debido a que durante el desarrollo del estudio pueden presentarse diferentes resultados o incidencias, es posible considerar información obtenida de experiencias o investigaciones previas para estimar la probabilidad de alcanzar el objetivo establecido y, a partir de ello, determinar el número de biomodelos que podrían requerirse (Dell *et al.*, 2002).

3.3 Proyectos destinados a probar una hipótesis formal.

En este tipo de proyectos se establece previamente una hipótesis que se pretende comprobar mediante los resultados obtenidos durante el experimento. Para determinar el número de biomodelos necesarios, se deben considerar las características de la variable que será evaluada y los criterios estadísticos relacionados con el estudio, como el tamaño del efecto que se desea detectar, la variabilidad esperada, la potencia estadística y el nivel de significancia (Dell *et al.*, 2002).

4. Criterios estadísticos para determinar el tamaño de muestra

El tamaño de muestra no puede determinarse únicamente a partir del número de grupos o del número de animales utilizado en investigaciones anteriores. Para realizar un cálculo del tamaño de muestra deben conocerse cuatro criterios:

- a. El tamaño del efecto que se desea detectar.
- b. La variabilidad de los resultados, expresada generalmente mediante la desviación estándar cuando se trabaja con variables continuas.
- c. La potencia estadística deseada.
- d. El nivel de significancia (α).

Los dos primeros criterios dependen de las características específicas de cada experimento, mientras que la potencia y el nivel de significancia suelen establecerse previamente de acuerdo con criterios estadísticos y científicos (Dell *et al.*, 2002; Festing *et al.*, 2018; Schmidt *et al.*, 2018).

El uso de un número fijo de biomodelos por grupo, como 6, 8 o 10, no constituye una justificación estadística del tamaño de muestra. Cuando se adopta un número de esta manera, debe existir una justificación científica y metodológica que explique por qué dicho número es apropiado para los objetivos del estudio (Velarde, 2026).

4.1 Tamaño del efecto y variabilidad esperada

El **tamaño del efecto** representa la magnitud de la diferencia que el investigador considera biológica o científicamente relevante y que desea detectar entre los grupos. No debe confundirse con la significancia estadística: una diferencia puede ser estadísticamente significativa, pero tener poca relevancia biológica, o puede ser biológicamente importante pero no detectarse debido a una muestra insuficiente (Schmidt *et al.*, 2018).

Para variables continuas, también es necesario considerar la **desviación estándar**, que permite estimar qué tanto varían los resultados entre los animales. Esta información puede obtenerse, cuando sea posible, de investigaciones previas que sean comparables con el estudio que se pretende realizar. Si no existe información suficiente, puede recurrirse a un estudio piloto para obtener una estimación preliminar de la variabilidad (Schmidt *et al.*, 2018).

4.2 Nivel de significancia

El **nivel de significancia (α)** representa la probabilidad máxima que se está dispuesto a aceptar de cometer un error tipo I; es decir, concluir que existe una diferencia cuando en realidad no existe. Los valores utilizados con frecuencia son $\alpha = 0.05$ o $\alpha = 0.01$ (Schmidt *et al.*, 2018).

4.3 Potencia estadística

La **potencia estadística** representa la probabilidad de detectar un efecto determinado cuando el efecto realmente existe, bajo las condiciones establecidas para el análisis. Se relaciona con el error tipo II (β) mediante la expresión:

$$\text{Potencia} = 1 - \beta$$

Por ejemplo, una potencia de 80 % corresponde a $\beta = 0.20$. En estudios experimentales, suelen considerarse potencias de 80 % a 90 %, aunque el valor apropiado debe establecerse de acuerdo con las características y objetivos del estudio. Aunque una potencia estadística elevada disminuye la probabilidad de cometer un error tipo II, incrementarla a valores muy altos puede requerir un aumento considerable del número de biomodelos. Por ello, la potencia seleccionada debe justificarse de acuerdo con los objetivos científicos, las consecuencias de un resultado falso negativo y el principio de reducción (Schmidt *et al.*, 2018).

5. Ajuste del tamaño de muestra ante incidencias experimentales

Una vez determinado el número de biomodelos necesario para responder la pregunta de investigación, debe considerarse que durante el desarrollo del estudio pueden presentarse pérdidas o incidencias que reduzcan el número de animales disponibles para el análisis final. Estas pueden incluir mortalidad, fallas en la inducción del modelo, criterios de exclusión previamente establecidos u otras situaciones previstas en el protocolo. Por ello, cuando las incidencias pueden estimarse a partir de antecedentes experimentales, es posible realizar un ajuste del número inicial de biomodelos (Rojo, 2014).

5.1 Fórmula para el ajuste por incidencias

De acuerdo con Rojo Amigo (2014), se presenta una fórmula para estimar el número de biomodelos adicionales que podrían requerirse ante la presencia de incidencias durante los procedimientos experimentales.

$$X = N / ((A/100) \times (B/100) \times (C/100) \dots)$$

Donde:

X=Número final de biomodelos necesarios o número de biomodelos del cual debemos partir.

N=Número mínimo estadístico que permite concluir los objetivos propuestos en el proyecto.

A=100-% de incidencia 1.

B=100-% de incidencia 2.

C=100-% de incidencia 3 y así sucesivamente.

Esta fórmula constituye una herramienta de apoyo para investigaciones preclínicas en las que pueden presentarse incidencias, como la ausencia de la patología de interés en algunos biomodelos o una respuesta experimental variable. Permite considerar dos incógnitas: el número total de biomodelos requeridos y el número de animales que podrían no presentar la condición esperada sin comprometer la validez de los resultados (Rojo, 2014).

6. Ejemplos prácticos

Ejemplo 1. Ajuste del número total de biomodelos por incidencias

Una investigadora realizará un estudio para evaluar el efecto de un extracto biológico en un modelo experimental de diabetes. Con base en el análisis estadístico del estudio, se determinó que requiere 24 biomodelos evaluables al finalizar el experimento, los cuales serán sometidos a inducción de diabetes mediante la administración de estreptozotocina. De acuerdo con antecedentes experimentales del modelo, se estima una tasa de inducción de diabetes del 77 % y una mortalidad del 12 % durante las primeras 24 horas posteriores a la administración, asociada a episodios de hipoglucemia (Ghasemi & Jeddi, 2023).

De acuerdo a la fórmula:

$$X = N / ((A/100) \times (B/100) \times (C/100) \dots)$$

X=Número final de biomodelos necesarios o número de biomodelos del cual debemos partir.

N=24

A=100-23%=77%

B=100-12%=88%

a) $X = 24 / ((77/100) \times (88/100))$

b) $X = 24 / ((0.77) \times (0.88))$

c) $X = 24 / 0.6776$

d) $X = \underline{35.41}$

El resultado de 35.41 corresponde al número estimado de biomodelos necesarios para la inducción de diabetes. Debido a que no es posible trabajar con una fracción de animal, se redondea al número entero superior, por lo que se requieren 36 biomodelos.

Ejemplo 2. Ajuste del número de biomodelos por grupo experimental

Siguiendo con el ejemplo de la investigadora que desea evaluar el efecto de extractos biológicos en un modelo experimental de diabetes, se plantea la realización de tres tratamientos diferentes, además de un grupo control.

Para fines de este ejemplo, se considerará que, a partir de la pregunta de investigación, la variable de resultado y los parámetros estadísticos previamente establecidos, un tamaño de muestra de 6 biomodelos evaluables por grupo experimental. Los biomodelos se distribuirán de la siguiente manera:

Grupo 1: Grupo control.

Grupo 2: Tratamiento con extracto 1.

Grupo 3: Tratamiento con extracto 2.

Grupo 4: Tratamiento con extracto 1 y 2.

En este ejemplo, sustituiremos el valor de $N = 24$ por $N = 6$, correspondiente al número de biomodelos requeridos por grupo, de acuerdo con el Ejemplo 1.

La sustitución se realiza de la siguiente manera:

Datos:

$N=6$

$A=100-23\%=77\%$

$B=100-12\%=88\%$

Adicionalmente, para fines de este ejemplo, se considerará una tercera incidencia (C), correspondiente a una pérdida hipotética 10% de los biomodelos durante el desarrollo del proyecto.

$C=100-10\%=90\%$

Sustituimos en la fórmula:

a) $X = 6 / ((77/100) \times (88/100) \times (90/100))$

b) $X = 6 / ((0.77) \times (0.88) \times (0.90))$

c) $X = 6 / 0.60984$

d) $X = \underline{9.83}$

El resultado obtenido, es el número de biomodelos a utilizar por grupo. Aplicando lo mencionado en el ejemplo 1, se va a utilizar 10 biomodelos para poder trabajar con un número par por grupo conservando el número mínimo calculado.

Finalmente, al multiplicar los 10 biomodelos requeridos por grupo por los cuatro grupos experimentales, se obtiene un total de 40 biomodelos para el desarrollo del protocolo de investigación.

7. Conclusiones

Determinar el tamaño de muestra requiere analizar, desde la etapa de planificación, el propósito del estudio, la pregunta de investigación, las variables que serán evaluadas y los criterios estadísticos necesarios para responder las interrogantes planteadas. Asimismo, la identificación del tipo de proyecto permite establecer los criterios necesarios para estimar el tamaño de muestra, considerando el tamaño del efecto, la variabilidad esperada, la potencia estadística y el nivel de significancia. Una vez establecido el número mínimo de biomodelos, también debemos contemplar las posibles incidencias experimentales que puedan modificar el número de biomodelos disponibles para el análisis final.

Debemos cuestionarnos si el número de biomodelos que requerimos para iniciar nuestra investigación es adecuado para obtener resultados verificables sin exceder la cantidad de biomodelos necesarios para el estudio. El conocimiento y la aplicación de estos criterios favorecen una adecuada planeación experimental, fortalecen la validez de los resultados y contribuyen al cumplimiento del principio de las 3R, particularmente en lo referente a la Reducción.

8. Referencias bibliográficas

- Arifin, W. N., & Zahiruddin, W. M. (2017). Sample Size Calculation in Animal Studies Using Resource Equation Approach. *The Malaysian journal of medical sciences: MJMS*, 24(5), 101–105. <https://doi.org/10.21315/mjms2017.24.5.11>
- Dell, R. B., Holleran, S., & Ramakrishnan, R. (2002). Sample size determination. *ILAR journal*, 43(4), 207–213. <https://doi.org/10.1093/ilar.43.4.207>
- Festing, M., Overend, P., Borja, M. & Berdoy, M., (2018). On determining sample size in experiments involving laboratory animals. *Laboratory Animals*, 52(4), 341–350. <https://doi.org/10.1177/0023677217738268>
- Ghasemi, A., & Jeddi, S. (2023). La estreptozotocina como herramienta para la inducción de modelos de diabetes en ratas: una guía práctica. *EXCLI Journal*, 22, 274–294. <https://doi.org/10.17179/excli2022-5720>
- Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., Browne, W. J., Clark, A., Cuthill, I. C., Dirnagl, U., Emerson, M., Garner, P., Holgate, S. T., Howells, D. W., Karp, N. A., Lazic, S. E., Lidster, K., MacCallum, C. J., Macleod, M., Pearl, E. J., Petersen, O. H., Rawle, F., Reynolds, P., Rooney, K., Sena, E. S., Silberberg, S. D., Steckler, T., Würbel, H., & Boutron, I. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLOS Biology*, 18(7), e3000410. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
- Rojo Amigo, A. (2014). Cálculo del tamaño muestral en procedimientos de experimentación con animales. Valoración de incidencias. *Animales de Laboratorio*, (62). <https://sites.google.com/ciencias.unam.mx/cearc/c%C3%A1culo-de-n>
- Schmidt, S. A. J., Lo, S., & Hollestein, L. M. (2018). Research techniques made simple: Sample size estimation and power calculation. *The Journal of Investigative Dermatology*, 138(8), 1678–1682. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.06.165>
- Velarde, A. R. M. (2026, abril 26). *How to calculate sample size for in vivo studies: A practical guide*. ModernVivo. <https://www.modernvivo.com/post/how-to-calculate-sample-size-for-in-vivo-studies>.