



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL.**

**USO DE DOS PROBIÓTICOS EN GATOS EN
CRECIMIENTO: SU EFECTO EN ALGUNAS
VARIABLES ALIMENTICIAS, INMUNOLÓGICAS Y
FISIOLÓGICAS**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCAIS**

P R E S E N T A

SILVIA ALEJANDRA VÁZQUEZ VEGA

TUTOR: CARLOS GUITIERREZ OLVERA.

COMITÉ TUTORAL: SILVIA E. BUNTINX DIOS.

MARIO A. COBOS PERALTA.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción.....	3
Microflora	3
Microflora intestinal.....	4
Probióticos: algo de historia	6
Características	8
Modo de acción de los probióticos.....	9
Probióticos en pequeñas especies	13
Probióticos en gatos	16
Justificación.....	17
Objetivo general	18
Objetivos específicos.....	18
Hipótesis	18
Material y métodos	19
1. Probióticos	19
2. Animales	20
Consideraciones de alojamiento.....	21
Alimentación	22
3. Tratamientos	24

4. Pesaje de los gatos	24
5. Muestreo de sangre	26
6. Recolección de excretas	26
Variables a medir	27
1. Consumo voluntario	27
2. Peso	27
3. Calidad de las heces	27
4. Análisis de laboratorio	29
5. Digestibilidad aparente	32
Análisis estadístico	32
Resultados	34
1. Consumo voluntario	34
2. Peso	34
3. Calidad de las heces	35
4. Análisis de laboratorio	37
5. Digestibilidad aparente	43
Discusión	46
Conclusión	49
Referencias	50
Anexos	53

ÍNDICE

FIGURAS

Figura 1. Distribución de los corrales que albergaron a los 40 gatos	22
Figura 2. Sistema de puntuación de heces	28
Figura 3. Pesos promedio de los animales experimentales durante el estudio	35
Figura 4. Calidad de heces por tratamiento a lo largo del tiempo	36
Figura 5. Hematocrito de los animales experimentales en los diferentes tratamientos ..	39
Figura 6. Valores promedio de glóbulos blancos de los animales experimentales a través del tiempo	41
Figura 7. Valores promedio de BUN de los animales experimentales a través del tiempo	42
Figura 8. Valores promedio de amoniaco en sangre en los animales experimentales a través del tiempo	43
Figura 9. Digestibilidad aparente de proteína cruda (DPC) en los animales experimentales a través del tiempo	44
Figura 10. Digestibilidad aparente de extracto etéreo (DEE) en los animales, por tratamiento	45

USO DE DOS PROBIÓTICOS EN GATOS EN CRECIMIENTO: SU EFECTO EN ALGUNAS VARIABLES ALIMENTICIAS, INMUNOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS.

RESUMEN

Existe una estrecha relación entre la microflora intestinal y la salud, se sabe que es posible manipular la microflora intestinal por medio de la alimentación para obtener beneficios directos sobre la salud. De esta forma surgen los probióticos, que por definición son microorganismos vivos que al adicionarse a la dieta, alteran la microflora (por implantación o colonización), ejerciendo un efecto positivo sobre la salud, más allá de los efectos específicos que ejerce la nutrición.

El uso de probióticos en animales de compañía ha sido poco estudiado. Su utilización se basa en los buenos resultados que se han observado en la clínica al utilizar preparaciones de uso humano para el tratamiento de diarreas o para minimizar los daños causados a la microflora por el uso de antibióticos.

El uso y estudio de probióticos en gatos es aún más limitado que en el perro, pero es de suponer que administrar probióticos en gatos tenga igualmente efectos benéficos para su salud.

El presente estudio se realizó para determinar si la adición de probióticos a la dieta de gatitos mejora su salud. Para ello se utilizaron 40 gatos, 19 machos y 21

hembras, con un rango de edad de 3 a 10 meses y un peso promedio de 1.300 kg, y dos probióticos de uso humano (*Enterococcus faecium* y *Bacillus clausii*), cada uno a dos niveles. Se formaron 8 bloques de 5 gatitos, a los cuales les fue asignado aleatoriamente uno de cinco tratamientos.

En las respuestas estudiadas (consumo diario de alimento, hemograma, recuento de linfocitos, urea y amoniaco en sangre, digestibilidad de la materia seca, proteína cruda y extracto etéreo y calidad de las heces) sólo se encontraron diferencias significativas en el calidad de las heces, en donde el grupo control mantuvo un puntuación de 3 (heces húmedas, que empiezan a perder forma), mientras que los animales a los que se proporcionó enterococo llegaron a tener puntuaciones de hasta 4.5 (diarrea, con algunas áreas de consistencia). Por el contrario los grupos tratados con bacilo mejoraron significativamente la calidad, teniendo puntuaciones de 2 (heces bien formadas, no dejan marca cuando se recogen).

Se concluye que la complementación con probióticos de uso humano a la dieta de gatitos sanos no proporciona ningún beneficio en las variables medidas en este estudio y que el uso de enterococos promueve la producción de heces blandas.

INTRODUCCIÓN

La principal función de los alimentos en la dieta de los animales es proporcionarles energía y nutrientes (proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas). Sin embargo, en la actualidad se busca que de los alimentos se obtenga un beneficio adicional, mejorar la salud, ya sea de forma preventiva o terapéutica (1).

Desde hace muchos años se sabe que existe una estrecha relación entre la microflora intestinal y la salud de los individuos, ya que se ha demostrado que estos microorganismos tienen una función importante de protección de la mucosa intestinal frente a las infecciones (2).

Hoy en día se sabe que es posible manipular la microflora intestinal por medio de la alimentación para obtener beneficios sobre la salud de los animales. De este modo surgen los probióticos, los cuales en especies productivas se han utilizado con grandes beneficios, pero cuyo uso en animales de compañía ha sido muy poco estudiado y solamente se han utilizado en la práctica de forma empírica.

MICROFLORA

La microflora es el conjunto de microorganismos que en un animal sano se localiza de manera normal en distintos sitios del cuerpo, como son: tracto

gastrointestinal, genitourinario, piel, entre otros. Los tipos de microorganismos presentes en la flora normal y su sucesión tienen una regulación multifactorial. Dicha regulación es ejercida tanto por el huésped como por los propios microorganismos (3).

Existen condiciones propias de cada hábitat que influyen en la composición de la microflora, como son temperatura, pH, concentración de oxígeno, entre otros. Influencias exógenas también pueden afectar el balance de la microflora, como son, por ejemplo a nivel intestinal, el tipo de dieta y el ayuno (3).

MICROFLORA INTESTINAL

La microflora intestinal juega un papel crucial en las defensas del huésped animal, ya que se ha demostrado su capacidad para modular la inmunidad tanto innata como adquirida, y de forma local como a nivel sistémico (4). El primero en sugerir que la microflora intestinal juega un papel importante en el mantenimiento de la salud fue el ruso Metchnikoff en 1907 y posteriormente en 1954, Bonnhoff demostró, utilizando ratones, que después de un tratamiento oral con grandes dosis de estreptomicina se incrementaba la susceptibilidad para la *Salmonella* spp (5).

Asimismo, se sabe que las bacterias intestinales tienen un importante papel en la nutrición, ya que contribuyen a la digestión del alimento, tanto enzimáticamente

como por modificación de la actividad morfológica y metabólica de la mucosa intestinal. En un animal sano cada porción del tracto gastrointestinal está colonizada por una microflora típica, la cual se adapta y desarrolla en una simbiosis benéfica con el huésped (6).

Esta microflora residente normal dificulta la colonización del lumen por otros microorganismos, en especial por patógenos, por lo que ejerce un efecto protector. Este mecanismo ha sido probado en numerosos trabajos de investigación que demuestran la susceptibilidad de los animales libres de microorganismos a las infecciones intestinales como consecuencia de la acción de bacterias patógenas (3).

Cada especie animal presenta una microflora intestinal distinta y específica y, además, la densidad de ésta varía en las diferentes zonas del tracto gastrointestinal (7). La mayoría de los conocimientos sobre la microflora intestinal en perros y gatos proviene de estudios en humanos. Microbiológicamente, el tracto gastrointestinal se divide en 3 principales regiones: estómago, intestino delgado y colon.

En términos de población microbiana, el estómago posee bajo número de bacterias, como lactobacilos y estreptococos (anaerobios facultativos). El intestino delgado posee una gran carga bacteriana, que consiste en anaerobios facultativos, tales como lactobacilos, estreptococos y enterobacterias, así como anaerobios, como bífidobacterias y bacteroides. La región con más carga

bacteriana es el colon, dominada por anaerobios estrictos como bacteroides, clostridios, eubacterias, bífidobacterias y bajos niveles de anaerobios facultativos, que incluyen lactobacilos, enterococos, estreptococos y enterobacterias (8).

La imagen de la microflora colónica canina y felina se conoce, en gran parte, a través de estudios realizados con métodos tradicionales de investigación (crecimiento en agar) (8). En estudios recientes, utilizando métodos más modernos (flourescent *in situ* hybridization, FISH), el aspecto más significativo encontrado en la microflora intestinal canina es el bajo nivel de bífidobacterias en comparación con otros animales (9).

La microflora colónica felina no está bien caracterizada y los niveles de bífidobacterias probablemente sean más bajos que en perros (8). De hecho, las bífidobacterias sólo se han aislado intermitentemente de gatos (10).

PROBIÓTICOS

ALGO DE HISTORIA

El concepto de probiótico (del griego: a favor de la vida) data de hace más de 100 años. El microbiólogo ruso Ellie Metchnikoff, científico del Instituto Pasteur, fue quien por primera vez afirmó que “la dependencia de los microbios intestinales, con respecto a los alimentos, hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles”, ya que

decía que algunas bacterias no son necesariamente perjudiciales para los humanos y que, en cambio, pueden ser benéficas para la salud y bienestar (11).

En los años 30, Minoru Shirota, microbiólogo japonés, propuso que muchas enfermedades podrían ser prevenidas si se mantenía una microflora óptima en el intestino (12). Shirota aisló bacterias ácido-lácticas del intestino humano que pudieran ser benéficas y seleccionó las especies que pudieran sobrevivir el paso a través del sistema digestivo. De su trabajo fue desarrollado el bien conocido Yakult (13).

El concepto de “probiótico” ha evolucionado con el tiempo. En 1974, Parker fue el primero en usar el término “probiótico” de acuerdo con el sentido que hoy conocemos, es decir, microorganismos que contribuyen al balance microbiano intestinal. Fuller, en 1989, intenta mejorar la definición hecha por Parker, con objeto de recalcar el carácter microbiano de los probióticos, la importancia de la viabilidad y el aspecto de beneficio para el huésped animal. Así que lo definió como “un suplemento dietético basado en microorganismos vivos que afecta beneficiosamente al huésped animal mejorando su equilibrio intestinal”. Esta definición enfatiza el requerimiento de viabilidad para los probióticos e introduce el aspecto de beneficio para el huésped (12).

Una definición más reciente considera como probiótico a un microorganismo vivo que se adiciona a la dieta y que altera la microflora (por implantación o colonización), y ejerce un efecto positivo en la salud, más allá de los efectos

específicos de la nutrición (14). Esta definición hace hincapié en la presencia de microorganismos viables en número suficiente para provocar los efectos beneficiosos sobre la salud, a través de una alteración positiva de la microflora del intestino.

CARACTERÍSTICAS

Para que un compuesto o microorganismo sea considerado como probiótico debe reunir ciertas características (15):

- 1.- Ser habitante normal del intestino
- 2.- Tener un tiempo corto de reproducción
- 3.- No ser sensible a las enzimas proteolíticas gastrointestinales
- 4.- Ser capaz de sobrevivir el ambiente ácido a su paso por el estómago
- 5.- Ser estable frente a ácidos y bilis y no conjugarse con las sales biliares
- 6.- Poseer la capacidad para adherirse a las superficies epiteliales
- 7.- Sobrevivir al ecosistema intestinal
- 8.- Producir compuestos antimicrobianos
- 9.- Permanecer vivo o activo y estable durante su empleo
- 10.- Tener un mecanismo específico de adhesión al intestino
- 11.- Tener capacidad de crecimiento rápido en las condiciones del intestino
- 12.- Alterar, equilibrar y fortalecer la microflora intestinal al mismo tiempo que estimula las defensas naturales del cuerpo

13.- Inducir efectos locales o sistémicos beneficiosos para la salud del huésped, más allá de los meramente nutritivos

14.- Disminuir y prevenir el riesgo a contraer enfermedades además de mejorar el estado de salud.

15.- Ser producido en forma viable y en gran escala y permanecer viable y estable durante su uso y almacenamiento (16).

MODO DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS.

Los probióticos han sido utilizados principalmente para prevenir y curar infecciones gastrointestinales, ya que estimulan las funciones protectoras del sistema digestivo.

En la actualidad, se han realizado múltiples estudios que demuestran que los beneficios asociados al consumo de probióticos no sólo se limitan al sistema digestivo, sino que pueden traer beneficios a nivel sistémico y reducir o prevenir algunas patologías. Algunos autores los han llamado incluso bioterapéuticos, bioprotectores y bioprolácticos (14).

Dentro de los efectos y diversos modos de acción de los probióticos a nivel general podría decirse que:

- ✓ Restauran el equilibrio ecológico intestinal normal.

✓ Protegen al huésped de la colonización de patógenos intestinales. Este efecto es producido mediante varios mecanismos (17):

⊗ Competencia por nichos específicos en la mucosa intestinal (bloqueo físico de los sitios de fijación) (3,13).

⊗ Competencia por los nutrientes.

⊗ Reducción del pH intestinal, lo que evita la proliferación de patógenos (mediante la producción de ácidos como, acético, propiónico y butírico) (9).

⊗ Capacidad de secreción de antibióticos naturales (bacteriocinas).

⊗ Aumento de mucina protectora del intestino.

✓ Reducen la absorción intestinal de compuestos potencialmente tóxicos, como el amoníaco, debido a la disminución del pH intestinal.

✓ Al producir ácidos grasos de cadena corta (AGCC) promueven la salud e integridad de la mucosa local, mediante la estimulación del flujo de sangre epitelial gastrointestinal y la promoción de la integridad de la mucosa. Además, los AGCC sirven como fuente principal de energía para los colonocitos y facilitan las funciones de absorción y secreción normal del colon (18).

✓ Tienen efecto sobre el sistema inmunológico, aumentando los niveles de IgG en sangre y de IgA en el lumen intestinal, así como el número de macrófagos, neutrófilos y eosinófilos relacionados con una respuesta inmune inflamatoria (20).

✓ Producen vitaminas: las bífidobacterias producen vitaminas del complejo B.

Dentro de la medicina humana, el consumo de probióticos ha dado resultados mucho más importantes que sólo prevenir y curar diarreas, tanto en niños como en adultos. Se ha observado que su consumo puede tener múltiples beneficios:

- 1) Reducción de los síntomas de intolerancia a la lactosa, al disminuir la concentración de lactosa en la leche fermentada por actividad de la lactasa bacteriana.
- 2) Disminución de la duración de diarrea en niños y adultos, por efecto de barrera, al evitar la colonización de la mucosa intestinal por bacterias potencialmente patógenas y por promoción de una respuesta de IgM e IgA específica contra rotavirus a nivel local y sistémico.
- 3) Disminución y prevención de infecciones gastrointestinales por efecto de barrera al evitar la colonización de la mucosa intestinal por bacterias potencialmente patógenas y por la producción de compuestos antimicrobianos (ácido láctico, H_2O_2 , bacteriocinas).
- 4) Disminución de los síntomas de dermatitis atópica y alergia a alimentos, por la actividad proteolítica de las bacterias probióticas contra la caseína de la leche y generación de péptidos con efectos supresores de la proliferación de linfocitos. Además, reducen la concentración del factor alfa-1 anti-tripsina y factor alfa de necrosis tumoral, marcadores en la inflamación intestinal.
- 5) Inmunopromoción con propiedades antitumorales, por la reducción de metabolitos putrefactivos, incremento en la producción de IgA e interleucinas y por disminución en las actividades enzimáticas de la beta-

glucuronidasa y beta-glucosidasa, asociadas con la síntesis de procarcinógenos.

Los principales microorganismos utilizados como probióticos en medicina humana y en animales son las bacterias ácido-lácticas (BAL), de las cuales los lactobacilos, las bifidobacterias y los enterococos son las más empleados.

Las bacterias ácido-lácticas son un amplio grupo Gram +, bacilos o cocos, principalmente no esporuladas, generalmente no móviles, aerotolerantes, ácido resistentes, que carecen de citocromos, de porfirinas y que por esta razón, son catalasa negativas y oxidasa negativas. La energía celular procede de la fermentación de carbohidratos para producir principalmente ácido láctico, siendo éste su principal producto final (20).

Las bacterias ácido-lácticas con frecuencia se comportan como inhibidoras de otros microorganismos, debido a diversos factores, como son, la producción de los ácidos láctico y acético junto con la consiguiente disminución del pH. Son productoras de bacteriocinas que son péptidos o proteínas bactericidas que generalmente se activan frente a especies patógenas (11).

PROBIÓTICOS EN PEQUEÑAS ESPECIES

Los probióticos han sido utilizados en perros y gatos terapéuticamente, en el tratamiento de diarrea o profilácticamente, para minimizar los daños causados a la composición de la microflora intestinal por el uso de antibióticos o por gastroenteritis. Empíricamente, los Médicos Veterinarios han utilizado las preparaciones comerciales de uso humano para este tipo de problemas, obteniendo buenos resultados en la mayoría de los casos.

Perros y gatos que viven en criaderos o refugios, cachorros y gatitos que son vendidos en tiendas de mascotas, se ven amenazados por infecciones, estrés, un nuevo hogar, los cambios de dieta, etc., son todas condiciones que pueden tener efectos en la microflora intestinal de perros y gatos, lo que puede afectar la resistencia de la mascota a enfermedades y para lo que lo puede ser benéfica la utilización de probióticos.

La administración de bacterias ácido-lácticas como probióticos ha sido recomendada en perros; sin embargo existen muy pocos estudios que confirmen su efecto benéfico.

En la actualidad, la utilización de probióticos en perros y gatos ha ido en aumento. Se pueden encontrar en el mercado diferentes presentaciones y preparaciones que dicen contener probióticos, desde tabletas, polvos, pastas, hasta alimentos comerciales que dicen contener uno o más elementos probióticos, sin embargo,

algunos de estos productos no tienen ningún fundamento científico, ya que no demuestran su eficacia con estudios previos. Además, muchas veces no contienen ningún probiótico o no contienen lo que dice tener el producto.

En el 2003, el Departamento de Estudios Clínicos del Colegio Veterinario de Ontario, de la Universidad de Guelph, Ontario, realizó un estudio de “Evaluación bacteriológica de alimentos de perro y gato que dicen contener probióticos”. En dicho estudio se analizaron 19 marcas de alimentos, cuyas etiquetas decían contener probióticos específicos y/o los productos de la fermentación; 13 de estas dietas eran para perro y 6 para gato. Como resultado obtuvieron que ninguna de las 19 dietas contenía todos los organismos de decían sus etiquetas y en algunas (5 dietas, 26%) no se presentó ningún probiótico de los mencionados en la etiqueta (21).

En un estudio *in vitro*, realizado en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Helsinki, se investigó la habilidad de ciertas bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus rhamnosus*, *L. pentosus* UK1A, *L. pentosus* SK2A, *Bifidobacterium lactis* Bb12 y 2 cepas de *Enterococcus faecium*) para evitar la adhesión de bacterias patógenas (*Salmonella*, *Clostridium perfringens* y *Campylobacter jejuni*) a la mucosa intestinal del perro. El resultado más importante fue que todas las bacterias ácido-lácticas utilizadas reducían significativamente la adhesión de *C. perfringens*. La adhesión de los otros patógenos probados no mostró ningún cambio significativo al utilizar las bacterias ácido-lácticas (22).

Otro estudio realizado en el Departamento de Estudios Clínicos del Colegio Veterinario de Ontario, de la Universidad de Guelph, Ontario, evaluó la capacidad del *Lactobacillus rhamnosus* cepa GG (LGG) para sobrevivir al tránsito intestinal. Se utilizaron 22 perros de la raza Beagle, divididos en 5 grupos. Se obtuvieron muestras fecales los días 0, 1, 3, 5, 6, 7, 9 y 11 del estudio, los perros fueron supervisados diariamente para observar cambios en las condiciones clínicas, parámetros vitales, apetito y consistencia fecal. Este estudio demostró que el LGG puede sobrevivir el tránsito intestinal en perros sin causar ningún efecto nocivo clínico evidente (23).

Un estudio más completo realizado en la Universidad de Reading, UK, no solamente analizó la cantidad de bacterias en las heces después de la administración del probiótico, sino que también se observaron los cambios que hubo después de su administración en la estimulación de la función inmune. Para este estudio se utilizaron 15 perros adultos, en los cuales observaron que, después de la administración del probiótico, en este caso *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241, se obtuvo un incremento significativo en la población recuperada de lactobacilos en las heces con la concomitante disminución en la población de clostridios. Estos animales no mostraron cambios significativos en la bioquímica sanguínea, temperatura corporal o calidad de las heces, pero estudios de la función inmune mostraron cambios significativos en el incremento en suero de IgG, monocitos y neutrófilos (24).

PROBIÓTICOS EN GATOS

Prácticamente no existen estudios sobre el uso de probióticos en gatos; la mayoría de los estudios sobre probióticos en animales de compañía se ha enfocado a los perros.

Existe un estudio realizado por Nestlé Purina, en el que se utilizó la raíz de achicoria como prebiótico en gatos de edad avanzada. Se ofreció durante 5 años una dieta que contenía esta raíz y los resultados en beneficio de la salud de los gatos fueron muy buenos, ya que se incrementaron las colonias de bífidobacterias y lactobacilos, disminuyendo las colonias de *Clostridium perfringens* (25).

Es posible suponer que la administración de probióticos en gatos traiga como consecuencia una reducción significativa de problemas intestinales, además de beneficios sistémicos, ya que los productos finales de la fermentación de estas bacterias podrían beneficiar la salud de los riñones, por reducir la producción de amoníaco, y por consiguiente, reducir la carga de urea. Las bacterias intestinales sintetizan ureasa, que convierte la urea en amoníaco y CO₂. El amoníaco es utilizado por las bacterias como fuente de nitrógeno para la formación de proteína. Este proceso elimina el nitrógeno ureico de la circulación y lo incorpora a la proteína bacteriana, que finalmente se excreta en las heces.

JUSTIFICACIÓN

El uso de probióticos en medicina humana ha traído enormes beneficios a la salud de las personas. Los probióticos han sido utilizados en perros y gatos terapéuticamente, en el tratamiento de diarrea o profilácticamente, para minimizar los daños causados a la composición de la microflora intestinal por el uso de antibióticos o por gastroenteritis. Empíricamente, los Médicos Veterinarios han utilizado las preparaciones comerciales de uso humano para este tipo de problemas, obteniendo buenos resultados en la mayoría de los casos.

La administración de bacterias ácido-lácticas como probióticos ha sido recomendada para su uso en perros; sin embargo, prácticamente no existen estudios sobre el uso de probióticos en gatos.

Por lo tanto, la finalidad de este estudio fue obtener información que permita determinar si el uso de probióticos de uso humano en gatos puede tener un efecto benéfico sobre su salud.

OBJETIVO GENERAL:

Demostrar que los probióticos de uso humano adicionados a la dieta de los gatitos mejoran su salud.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar el efecto de la adición de los probióticos en el consumo voluntario y peso de los gatos.
- Determinar el efecto de la adición de probióticos en la calidad de las heces.
- Determinar el efecto de la adición de probióticos en los niveles sanguíneos de urea y amoniaco.
- Determinar el efecto de la adición de probióticos en el número de glóbulos blancos.
- Determinar el efecto de la adición de probióticos en la digestibilidad del alimento.

HIPÓTESIS:

- El consumo voluntario se modificará al agregar el probiótico a la dieta.
- La administración del probiótico mejorará la calidad de las heces.
- Las bacterias probióticas reducirán el nitrógeno amoniacal y ureico.
- La administración del probiótico incrementará los glóbulos blancos.
- La digestibilidad de la dieta se mejorará al añadir el probiótico.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio tuvo una duración de 21 días. Para esta investigación se construyeron instalaciones adecuadas para alojar a los gatos, en un domicilio particular, ubicado al sur de la ciudad de México (D.F). Las heces recolectadas se trabajaron en el Laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, las muestras de sangre para analizar urea y amoniaco en el Laboratorio Clínico del Departamento de Patología, ambos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, y las muestras de sangre para hemograma se procesaron con el analizador hematológico VetAutoread de IDEXX en el lugar del experimento.

1. PROBIÓTICOS:

Se utilizaron dos probióticos de uso humano distintos:

NEOFLOR cápsulas.

Cada cápsula contiene:

Cultivo seco de *Enterococcus faecium* cepa Cernelle 68 (SF68) 3.530 mg

Equivalente a 75×10^6 UFC

Excipiente, c.b.p. 1 cápsula.

SINUBERASE suspensión

Cada ampollita contiene esporas de *Bacillus clausii* 2 billones UFC

Vehículo, c.b.p. 5 ml

Cada uno de los probióticos se utilizó a dos niveles:

DOSIS ALTA	DOSIS BAJA
Sinuberase: 2 billones UFC	Sinuberase: 1 billón UFC
Neoflor: 75×10^6 UFC	Neoflor: 37.5×10^6 UFC

Al no existir referencias sobre la dosis adecuada de *Enterococcus faecium* y de *Bacillus clausii* para su uso en gatos, se tomó como referencia la recomendación de los laboratorios, teniendo como dosis alta una ampolleta para bacilo y una capsula para enterococo, y para la dosis baja se utilizó el 50% de la dosis alta.

2. ANIMALES:

Se utilizaron 40 gatos clínicamente sanos (temperatura, frecuencia cardiaca y respiratoria dentro de los rangos normales, libres de parásitos internos y externos), 19 machos y 21 hembras, con una edad de entre 3 y 10 meses y un peso promedio de 1.300 kg. Treinta y dos gatos fueron esterilizados dos semanas antes de iniciar el estudio; ocho no fueron esterilizados por cuestión de tamaño, pues estaban muy pequeños para realizar la cirugía. Todos fueron desparasitados al llegar a las instalaciones y antes de iniciar el estudio con pamoato de pirantel y pamoato de oxantel, 15 mg por kilo de peso (VERMIPLEX PUPPY SUSPENSIÓN de HOLLAND). A los 40 gatos se les realizó la prueba SNAP combo leucemia-

sida felino de IDEXX, proporcionada por MAICO. Debido a que los gatos variaban en edad, peso, sexo y condición de esterilizado o no esterilizado, se decidió formar 8 bloques de 5 gatos que tuvieran valores similares en estas características y posteriormente se aleatorizó la asignación de los gatos a los tratamientos en cada bloque.

CONSIDERACIONES DE ALOJAMIENTO:

El alojamiento de los animales se adecuó a lo especificado por Loveridge en su documento “Comfortable Environmentally Enriched Housing For Domestic Cats” (26).

Como los animales se alojaron en grupos de 5, se utilizaron 3 cuartos donde se construyeron corrales con las dimensiones necesarias para proporcionar a cada gato su espacio vital, el cual según El Centro Waltham de Nutrición para Mascotas, debe ser de 1.0 m² de espacio por animal, más espacio en niveles superiores de por lo menos 2.0 m de altura (26) (Fig. 1).

Cada división fue provista de lo necesario para el bienestar de los gatos., los cuales contaron con espacios para esconderse, rascaderas suficientes, repisas alfombradas y juguetes adecuados para gatos. Se colocaron dos areneros por cada división, así como dos bebederos. Los gatos fueron socializados diariamente, ofreciendo periodos de juego en conjunto e individual, además de recibir atención individual

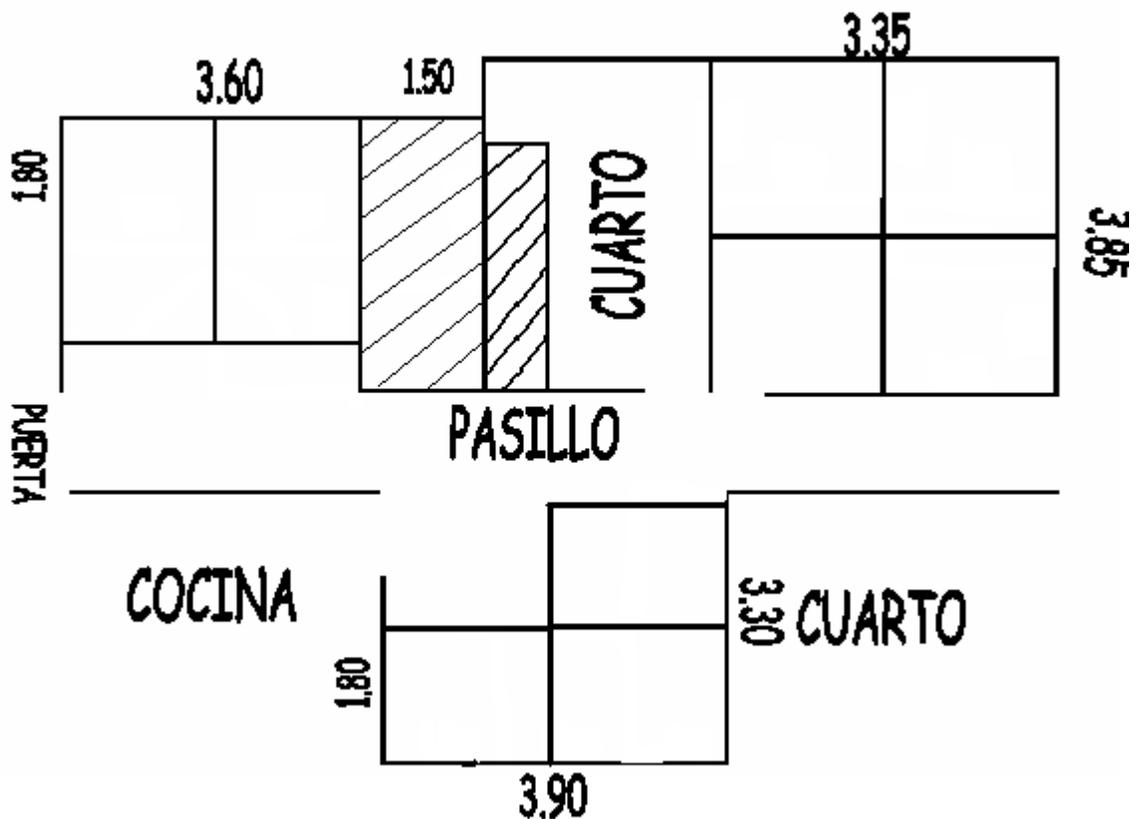


Figura 1. Distribución de los corrales que albergaron a los 40 gatos.

ALIMENTACION:

Los gatos fueron alimentados 4 veces al día, a las 10:00, 15:00, 20:00 y 24:00 hrs. Se dio un periodo de adaptación de 2 semanas antes de comenzar el estudio. Se otorgaban 20 minutos para comer, según las recomendaciones de James en su documento "The Laboratory Cat" (27).

En cada comida los gatos fueron colocados de forma individual en jaulas transportadoras, para así poder medir su consumo diario. Pasados los 20 minutos, los gatos se sacaban de las jaulas para socializar y jugar. Se utilizó alimento seco, Premium para gatitos, de marca comercial. En el cuadro 1 se especifica su análisis nutrimental.

Cuadro 1. Análisis garantizado y químico del alimento utilizado durante el experimento (%)

CONCEPTO	GARANTIZADO	QUÍMICO
PROTEINA CRUDA (MIN.)	36.0	37.6
GRASA CRUDA (MIN.)	11.0	10.7
FIBRA CRUDA (MAX.)	3.0	2.8
HUMEDAD (MAX.)	12.0	5.3
CENIZAS (MAX.)	8.0	7.1
CALCIO (Ca) (MIN/MAX.)	1.1 / 1.6	-
FOSFORO (P) (MIN/MAX.)	1.0 / 1.5	-
TAURINA (MIN.)	0.16	-

El alimento para cada gato era pesado antes de ofrecerlo, ofreciéndose 40 g a los gatos más pesados y 30 g a los gatos más pequeños. La cantidad de alimento se determinó, de acuerdo con las necesidades energéticas, tanto de los gatos pequeños como de los más pesados. Después de cada comida, el sobrante se pesaba para, por diferencia, obtener el consumo de cada gato en cada comida y al final del día obtener el consumo total.

El probiótico se administraba en la primera comida del día junto con una pequeña porción de alimento húmedo para facilitar su administración. Se daban 5 g de alimento húmedo para gatos grandes y 3 g para los gatos más pequeños. Junto con el alimento húmedo y el probiótico se mezclaba un colorante natural para teñir las heces de cada gato para su posterior identificación y recolección. Esta pequeña porción de alimento húmedo sólo se utilizó como vehículo para el probiótico y no se consideró dentro de la cantidad de alimento consumido. Se utilizó un colorante diferente para cada gato en cada grupo.

3. TRATAMIENTOS:

Se utilizaron 5 tratamientos, cuya asignación fue totalmente al azar en cada grupo de gatos. La asignación de tratamientos y cantidad de probiótico suministrado a cada gato puede observarse en el Cuadro 2.

4. PESAJE DE LOS GATOS:

Se pesó a los gatos antes de comenzar el estudio (día cero), a la mitad del estudio (día 10) y al término de los 21 días, para obtener cualquier aumento o disminución en el peso. Se utilizó una báscula digital.

**CUADRO 2. Distribución de los animales experimentales en los tratamientos
y cantidad de probiótico suministrado.**

TRATAMIENTO 1		TRATAMIENTO 2		TRATAMIENTO 3	
Gismo	0	Peludin	1.40 ml	Voldemort	1.40 ml
Sarnitas	0	Talibán	1.70 ml	Salem	3.00 ml
Güero	0	Halloween	1.70 ml	Timon	4.00 ml
M & M	0	Chococat	2.50 ml	Negrito	4.80 ml
Kinder cat	0	Mariboquitas	.80 ml	Chanse	1.80 ml
Jenifer N	0	Violeta	1.00 ml	Golum	1.80 ml
Etarra	0	Mini mini	1.40 ml	Nicole	3.30 ml
Frida	0	Emil	2.00 ml	Negra	3.40 ml

TRATAMIENTO 4		TRATAMIENTO 5	
Bolita	.70 ml	Cabach	2.90 ml
Black and Silver	1.50 ml	Pasiflorino	2.90 ml
Zapatista	1.90 ml	Ojitos	4.00 ml
Gemelo	2.20 ml	Pumba	4.20 ml
Houdini	.80 ml	Minicat	1.40 ml
Fantástica	1.20 ml	Lince	2.40 ml
Paris	1.60 ml	Silvester	2.40 ml
Simba	2.20 ml	Güera	3.80 ml

TRATAMIENTO 1: Testigo

TRATAMIENTO 2: Sinuberase dosis baja

TRATAMIENTO 3: Sinuberase dosis alta

TRATAMIENTO 4: Neoflor dosis baja

TRATAMIENTO 5: Neoflor dosis alta

5. MUESTREO DE SANGRE:

Los días 0, 7, 14 y 21 se tomaron muestras de sangre, por medio de veno-punción con catéter núm. 22 y 24. La sangre se recolectó en tubos vacutainer de 1 ml con EDTA para el hemograma y en tubo vacutainer sin EDTA de 1 ml para el examen de urea y amoniaco en sangre, uno para cada gato.

6. RECOLECCIÓN DE EXCRETAS:

Se recolectó y pesó diariamente el excremento de cada uno de los gatos, durante los 21 días. Para la recolección y el almacenamiento de las muestras se utilizaron bolsas “zip block”, previamente etiquetadas. Posteriormente se tomó una pequeña muestra de cada bolsa, para ser refrigerada para su posterior análisis.

Al mismo tiempo que se recolectaban las heces se valoró y registró su calidad, para evaluar y comparar, posteriormente, los cambios observados por medio del sistema de puntuación de heces.

RESPUESTAS MEDIDAS

1. CONSUMO VOLUNTARIO:

Para poder medir diariamente el consumo de cada uno de los gatos, el alimento se colocó de forma individual en bolsas “zip block”, identificada con sus respectivos nombres.

2. PESO:

Se tomó registro del peso de los gatitos los días 0, 10 y 21 del estudio para conocer la ganancia de peso.

3. CALIDAD DE LAS HECES:

La calidad de las heces fue evaluada utilizando un sistema de puntuación (Fig. 2), cuya escala va desde 1 a 5, donde el grado 1 representa heces duras, secas y friables y el grado 5 representa diarrea acuosa. La escala se subdivide en aumentos de medio punto. Los grados ideales son aquellos que entran dentro de las categorías de 1.5 a 2.5.



Grado 1:
Duras, secas y friables; como 'balas'.



Grado 1.5:
Duras y secas.



Grado 2:
Bien formadas; no dejan marca cuando se recojen; 'se pueden patear'



Grado 2.5:
Bien formadas con una superficie ligeramente húmeda que deja una marca cuando se recojen; 'casi pegajosas al tacto'



Grado 3: Húmedas, comienzan a perder la forma dejando una marca definitiva cuando se recojen.



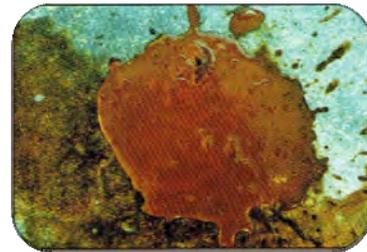
Grado 3.5: Muy húmedas pero todavía con una forma definida.



Grado 4:
Se ha perdido la mayor parte o toda la forma, poca consistencia, viscosa.



Grado 4.5:
Diarrea con algunas áreas de consistencia.



Grado 5:
Diarrea acuosa.

Figura 2. Sistema de puntuación de heces.

Grafico de puntuación de heces, Revista WALTHAM Focus (28)

4. ANÁLISIS DE LABORATORIO:

- HEMOGRAMA

Se utilizó el analizador hematológico VetAutoread de IDEXX, proporcionado por Maico de México.

Una vez tomada la muestra en tubos vacutainer con EDTA se siguieron los siguientes pasos:



PASO 1:

- Se insertó el capilar en la pistola, teniendo cuidado de que quedara perfectamente asegurado.



PASO 2:

- Se presionó y mantuvo presionado el émbolo de la pistola. El capilar se introdujo en el tubo con la muestra y se soltó el émbolo para que el capilar pudiera llenarse con la muestra.



PASO 3:

- Se selló la parte libre del capilar, utilizando un capuchón plástico.



PASO 4:

- Manteniendo el capilar de forma horizontal se quitó el seguro que impide que se caiga de la pistola y se retiró con sumo cuidado.



PASO 5:

- Manteniendo el capilar de forma horizontal, durante 30 segundos, se rotó el tubo con los dedos de un lado a otro.



PASO 6:

- Se insertó el flotador directamente en el capilar por el extremo contrario a la capucha plástica.



PASO 7:

- El capilar se centrifugó en la Vetcentrífuga de IDEXX, durante 5 minutos.



PASO 8:

- Una vez centrifugada la muestra se colocó en el VetAutoread para ser analizada.

- UREA Y AMONIACO

Las muestras se recolectaron en tubos vacutainer sin EDTA, e inmediatamente después se colocaron en agua con hielo y se transportaron al Laboratorio de Patología Clínica del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

- ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

El alimento utilizado durante el estudio se muestreó, tomando una porción del alimento por semana, resultando así tres diferentes muestras de diferentes lotes. Las muestras se mezclaron y a la mezcla se le hizo un análisis químico proximal.

El total de heces recolectadas durante los 21 días del estudio se mantuvo en refrigeración, y se pesó de nuevo antes de su análisis. Las heces de cada gato se mezclaron por semana para poder obtener una muestra por semana por gato, teniendo al final 120 muestras, a las cuales se les realizó un análisis químico proximal.

5. DIGESTIBILIDAD APARENTE:

Se calculó la digestibilidad aparente de la materia seca (MS), de la proteína cruda (PC) y del extracto etéreo (EE), utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Digestibilidad aparente (\%)} = \left[\frac{\text{Cantidad consumida} - \text{Cantidad excretada}}{\text{Cantidad consumida}} \right] \times 100$$

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Las respuestas estudiadas se analizaron con análisis de varianza multivariado para observaciones repetidas. El diseño correspondió a un diseño en bloques completamente aleatorizado. Los criterios de bloqueo fueron el peso, la edad, el sexo y la condición de esterilización (gatitos no esterilizados y esterilizados). Para el análisis de las muestras de urea, amoníaco y hemograma, se realizó una sub- asignación, ya que no se pudo obtener muestras de todos los gatos debido al tamaño de algunos. Los cuadros 3, 4, 5 y 6 muestran la distribución de los animales en los diferentes bloques y tratamientos.

CUADRO 3. Distribución de los animales experimentales en los diferentes tratamientos y bloques

TRATAMIENTO	BLOQUE								TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	8	
TESTIGO	1	1	1	1	1	1	1	1	8
BACILO DOSIS BAJA	1	1	1	1	1	1	1	1	8
BACILO DOSIS ALTA	1	1	1	1	1	1	1	1	8
ENTEROCOCO DOSIS BAJA	1	1	1	1	1	1	1	1	8
ENTEROCOCO DOSIS ALTA	1	1	1	1	1	1	1	1	8
TOTAL	5	40							

CUADRO 4. Distribución de los animales experimentales en los diferentes tratamientos según el sexo

TRATAMIENTO	SEXO		TOTAL
	MACHO	HEMBRA	
TESTIGO	4	4	8
BACILO DOSIS BAJA	3	5	8
BACILO DOSIS ALTA	4	4	8
ENTEROCOCO DOSIS BAJA	4	4	8
ENTEROCOCO DOSIS ALTA	4	4	8
TOTAL	19	21	40

CUADRO 5. Distribución de los animales experimentales esterilizados y no esterilizados en los diferentes tratamientos

TRATAMIENTO	CONDICION		TOTAL
	NO ESTERILIZADO	ESTERILIZADO	
TESTIGO	2	6	8
BACILO DOSIS BAJA	2	6	8
BACILO DOSIS ALTA	2	6	8
ENTEROCOCO DOSIS BAJA	1	7	8
ENTEROCOCO DOSIS ALTA	1	7	8
TOTAL	8	32	40

CUADRO 6. Características de los bloques experimentales.

BLOQUE		SEXO		TOTAL
		MACHO	HEMBRA	
1	ESTERILIZADO	5		5
	NO ESTERILIZADO			
	TOTAL	5		
2	ESTERILIZADO	5		5
	NO ESTERILIZADO			
	TOTAL	5		
3	ESTERILIZADO	5		5
	NO ESTERILIZADO			
	TOTAL	5		
4	ESTERILIZADO	4	1	5
	NO ESTERILIZADO			
	TOTAL	4	1	
5	ESTERILIZADO			5
	NO ESTERILIZADO		5	
	TOTAL		5	
6	ESTERILIZADO		2	5
	NO ESTERILIZADO		3	
	TOTAL		5	
7	ESTERILIZADO		5	5
	NO ESTERILIZADO			
	TOTAL		5	
8	ESTERILIZADO		5	5
	NO ESTERILIZADO			
	TOTAL		5	
TOTAL		19	21	40

RESULTADOS

1. CONSUMO VOLUNTARIO

El análisis del consumo voluntario (BH) de los gatitos durante el experimento (anexo 1) reveló que no existió un efecto de tratamiento. La inclusión de los probióticos no afectó el consumo voluntario de los gatitos, cuyo promedio fue de 52.61 ± 3.50 g/d durante los 21 días.

2. PESO

No hubo diferencia estadística significativa en los pesos de los gatitos entre tratamientos (anexo 2); sin embargo, se encontró diferencia entre tiempos de pesaje ($P < .0001$). Los pesos promedio por muestreo aparecen en la Fig. 3. Como era de esperar, los gatitos fueron ganando peso a medida que iban creciendo. La ganancia promedio fue de $5.75 \pm$ g/d.

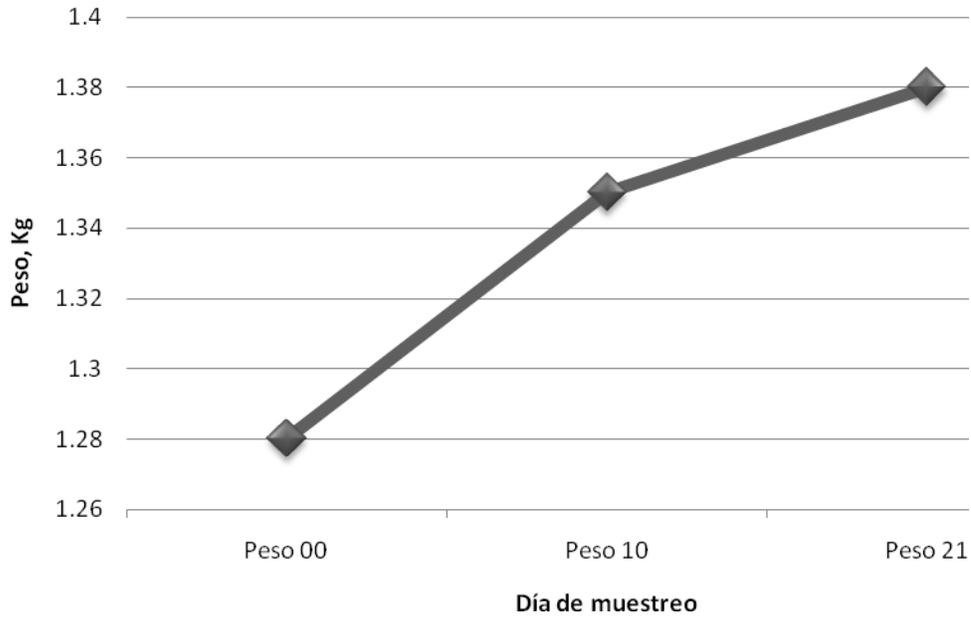


Figura 3. Pesos promedio de los animales experimentales durante el estudio

n= 40; efecto de tratamiento: P = .7992; efecto de bloque: P = .0001; ^aEfecto de tiempo: P = .0001; interacción tiempo*tratamiento: P = .8370

3. CALIDAD DE LAS HECES

El análisis de la calidad de las heces (anexo 3) indicó que el tratamiento tuvo un efecto sobre la calidad de las heces (P = .0001), además, la interacción tratamiento x tiempo fue significativa (P = .0014), como puede apreciarse en la Fig. 4.

Las heces del grupo testigo tuvieron una puntuación de 3, que se mantuvo constante a lo largo del experimento. Esta puntuación corresponde a una calidad

no aceptable, heces húmedas, que empiezan a perder forma. Los gatitos en los tratamientos con probiótico mostraron una calidad fecal aceptable en un principio, con calificaciones entre 2.8 y 2.4. Estas calificaciones corresponden a heces bien formadas, ligeramente húmedas. A medida que el estudio avanzó, las heces de los gatitos que recibieron enterococo fueron perdiendo calidad, hasta convertirse en heces muy húmedas, con poca consistencia. Sin embargo, la calidad de las heces mejoró en los gatitos que recibieron bacilos, alcanzando casi una calificación de 2, que corresponde a heces bien formadas, que no dejan marca cuando se recogen.

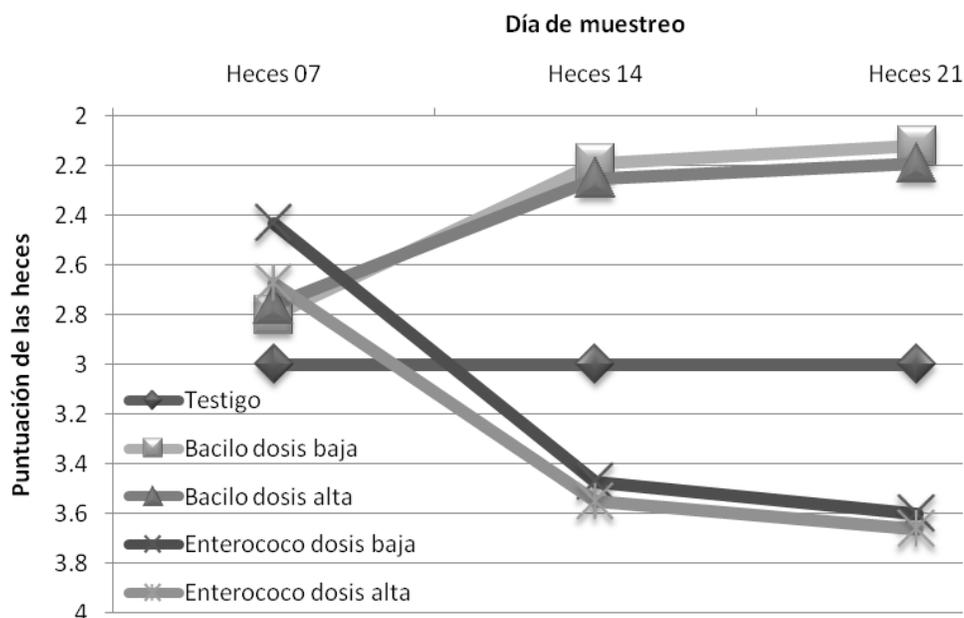


Figura 4. Calidad de heces por tratamiento a lo largo del tiempo.

n= 40; efecto de tratamiento: P = .0001; efecto de bloque: P = .8549; ^aEfecto de tiempo: P = .2636; interacción tiempo*tratamiento: P = .0014

4. ANÁLISIS DE LABORATORIO

Sólo se tomaron muestras de sangre a 25 gatitos, aquéllos que, por su tamaño, permitieron una localización sencilla de vasos sanguíneos, (cuadro 7). Para el análisis estadístico únicamente se tomaron en cuenta los resultados de 21 gatitos, pues al momento de designar a los gatitos que se muestrearían, por error sólo se tomó en cuenta el tratamiento y no el bloque. La distribución de los animales utilizados en el análisis estadístico, por tratamiento y por bloque, aparece en el cuadro 8.

CUADRO 7. Distribución de los animales experimentales muestreados.

BLOQUE	TRATAMIENTO					TOTAL
	1	2	3	4	5	
1	0	0	0	0	1	1
2	0	1	1	1	0	3
3	1	0	1	1	1	4
4	1	1	1	1	1	5
5	1	0	0	0	0	1
6	1	0	0	1	0	2
7	1	1	1	1	1	5
8	1	1	1	0	1	4
TOTAL	6	4	5	5	5	25

CUADRO 8. Distribución de los animales experimentales que se consideraron para el análisis estadístico de las variables sanguíneas.

TRATAMIENTO	BLOQUE					TOTAL
	2	3	4	7	8	
1	0	1	1	1	1	4
2	1	0	1	1	1	4
3	1	1	1	1	1	5
4	1	1	1	1	0	5

5	0	1	1	1	1	4
TOTAL	3	4	5	5	4	21

- **HEMOGRAMA**

- **Hematocrito**

El análisis de esta variable (anexo 4) indicó que la interacción tiempo x tratamiento fue significativa ($P < .05$). La interacción puede observarse en la Fig. 5. Lo primero que debe señalarse es que el hematocrito de los gatitos experimentales estuvo dentro de los límites normales el cual es de 30-45%, (31), excepto para los tratamientos bacilo y enterococo dosis baja los días 14 y 21 de muestreo, respectivamente.

Como puede observarse en la Fig. 5, los gatitos testigo y los gatitos que recibieron bacilos en dosis alta tuvieron un comportamiento muy similar: el hematocrito fue disminuyendo entre el primero y tercer muestreos, pero aumentó hacia el día 21. Los valores, sin embargo, siempre estuvieron dentro del rango normal.

Los gatitos que recibieron enterococos en dosis baja tuvieron un hematocrito muy estable entre los días 0 y 14, pero éste disminuyó a 28.5% hacia el día 21. Los gatitos no presentaron signos de enfermedad, por lo que es difícil saber a qué pudo haberse debido esta disminución.

Los gatitos que recibieron enterococos en dosis alta tuvieron un comportamiento más estable y los valores de hematocrito se mantuvieron dentro del rango normal.

El tratamiento más fluctuante fue el de bacilos en dosis baja, pero únicamente en el muestreo del día 14 el hematocrito cayó por debajo de 30% (26.6%).

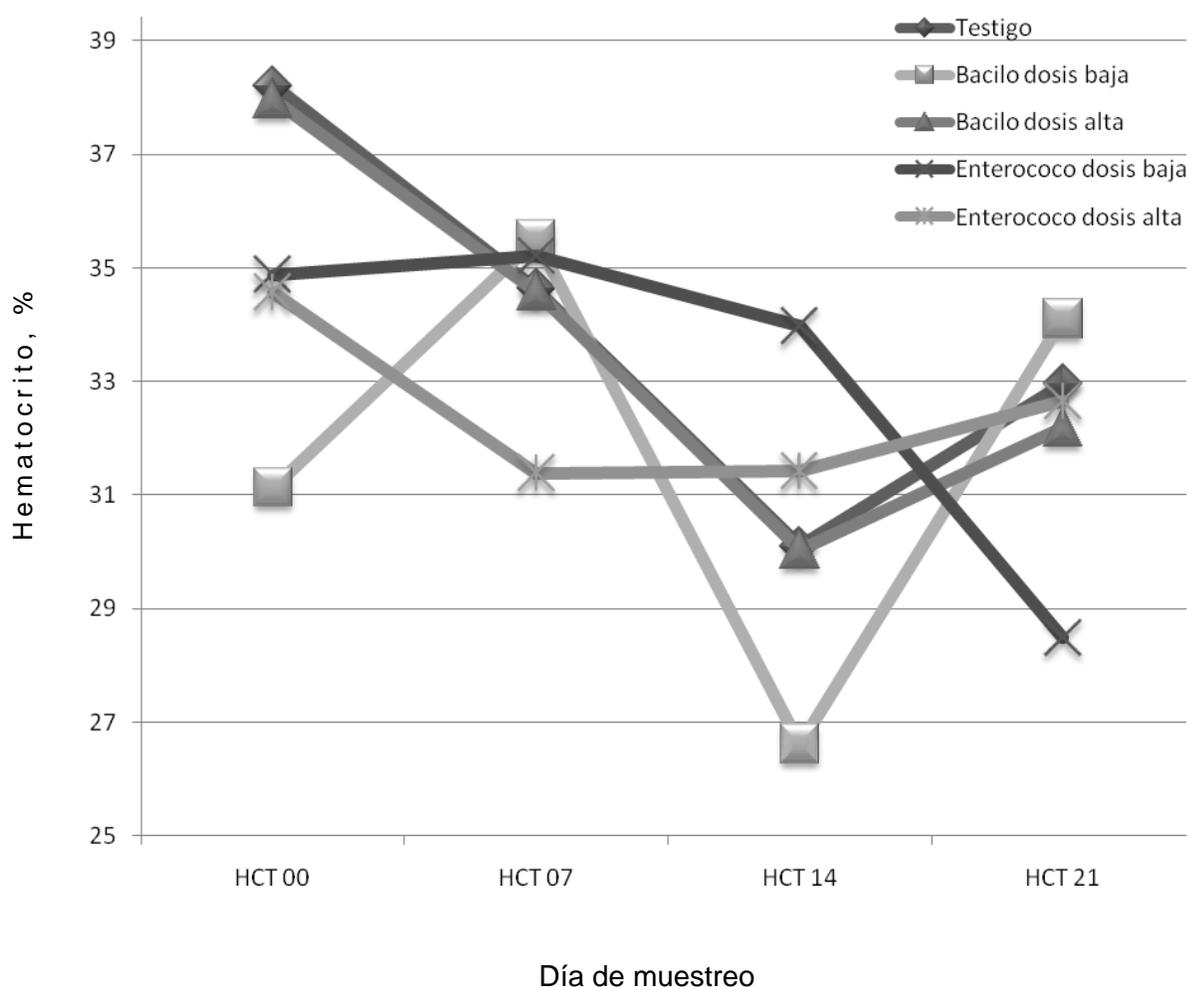


Figura 5. Hematocrito de los animales experimentales en los diferentes tratamientos

n=21; efecto de tratamiento: P = .8835; efecto de bloque: P = .0869; efecto de tiempo: P = .0482; interacción tiempo * tratamiento: P = .0426

- **Hemoglobina**

El análisis de los valores de hemoglobina de los gatitos (anexo 5) indicó que no hubo diferencias entre tratamientos ni a través del tiempo. El valor promedio de hemoglobina fue de 10.79 g/dl, que se mantuvo dentro del rango normal 8-15 g/dl (30).

- **Glóbulos blancos**

El análisis de los valores de glóbulos blancos de los gatitos (anexo 6) indicó que no hubo diferencias entre tratamientos, pero el efecto de tiempo fue significativo ($P < .03$, Fig. 6).

El rango normal de glóbulos blancos en los gatos es de $5.5 - 19.5 \times 10^3/\mu\text{l}$ (30). Como puede apreciarse en la Fig. 6, los gatitos experimentales estuvieron dentro de este rango durante todo el experimento, pero a partir del segundo muestreo, el conteo se elevó alrededor de 21%.

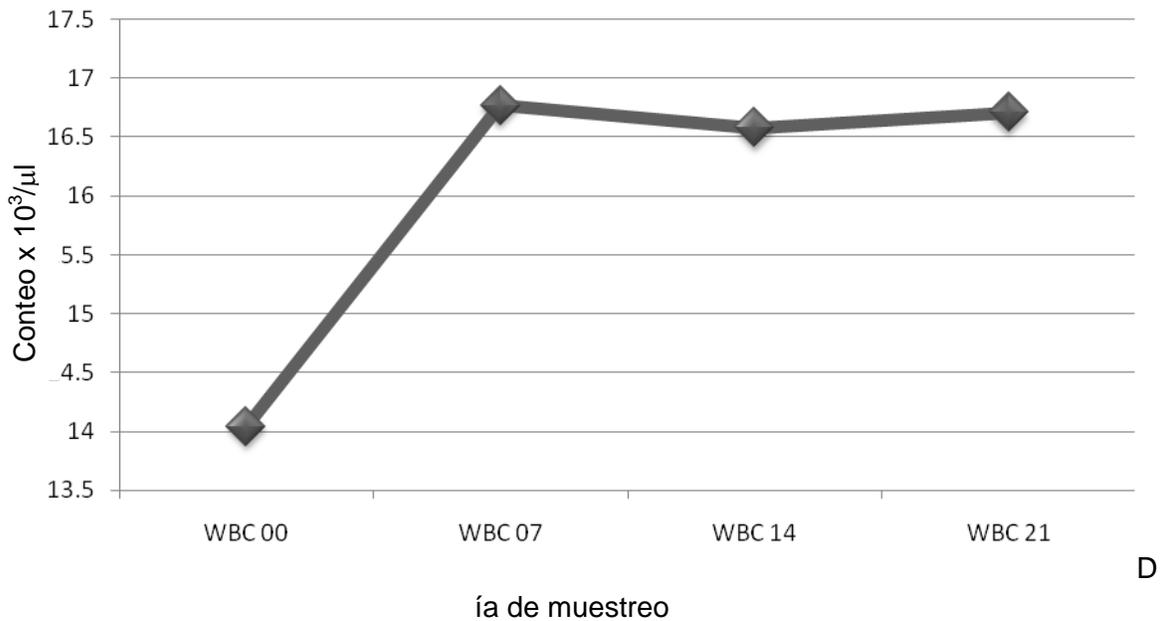


Figura 6. Valores promedio de glóbulos blancos de los animales experimentales a través del tiempo

n=21; efecto de tratamiento: P = .2621; efecto de bloque: P = .4052; efecto de tiempo: P = .0261; interacción tiempo x tratamiento: P = .4011

- **UREA y AMONIACO**

Los niveles de nitrógeno ureico en sangre (BUN) no mostraron diferencias significativas en el tratamiento (anexo 7). Sin embargo, se observó una diferencia significativa a través del tiempo (Fig. 7). El valor promedio de BUN durante el experimento fue de 10.26 mmol/L, dentro del rango normal para gatos (5.5 – 11.1 mmol/L, 30).

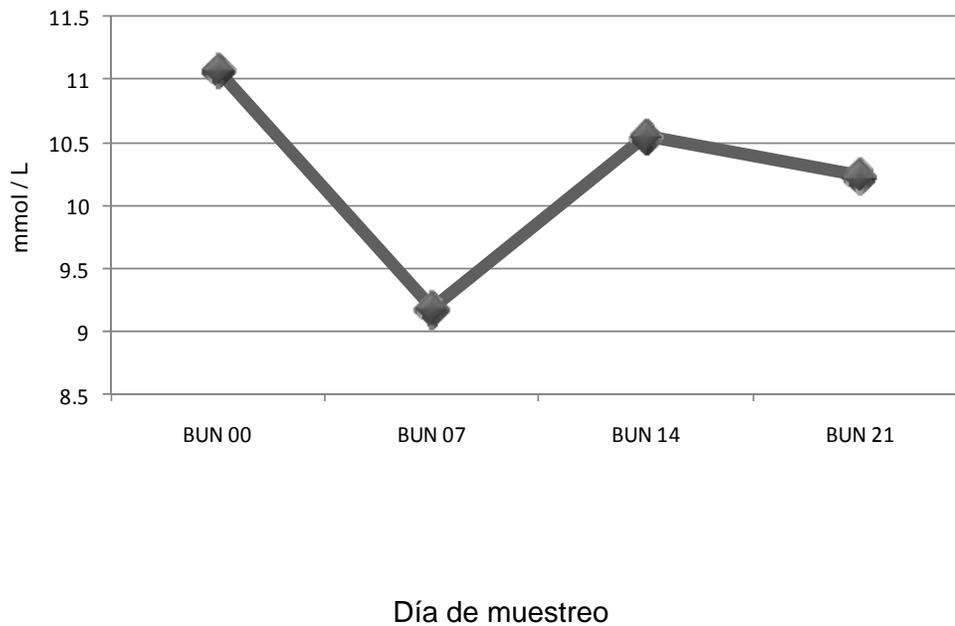


Figura 7. Valores promedio de BUN de los animales experimentales a través del tiempo

n=21; efecto de tratamiento: $P = .7873$; efecto de bloque: $P = .6335$; efecto de tiempo: $P = .0003$; interacción tiempo x tratamiento: $P = .8595$

La Fig. 8 muestra los valores de amoniaco en sangre durante el experimento. El análisis indicó un efecto de tiempo ($P < .05$, anexo 8): la concentración de amoniaco fue disminuyendo hasta el día 14. El rango normal de amoniaco en sangre en gatos sanos es de 58-176 $\mu\text{mol/L}$ (31), por lo que los valores en este estudio estuvieron dentro de los límites normales.

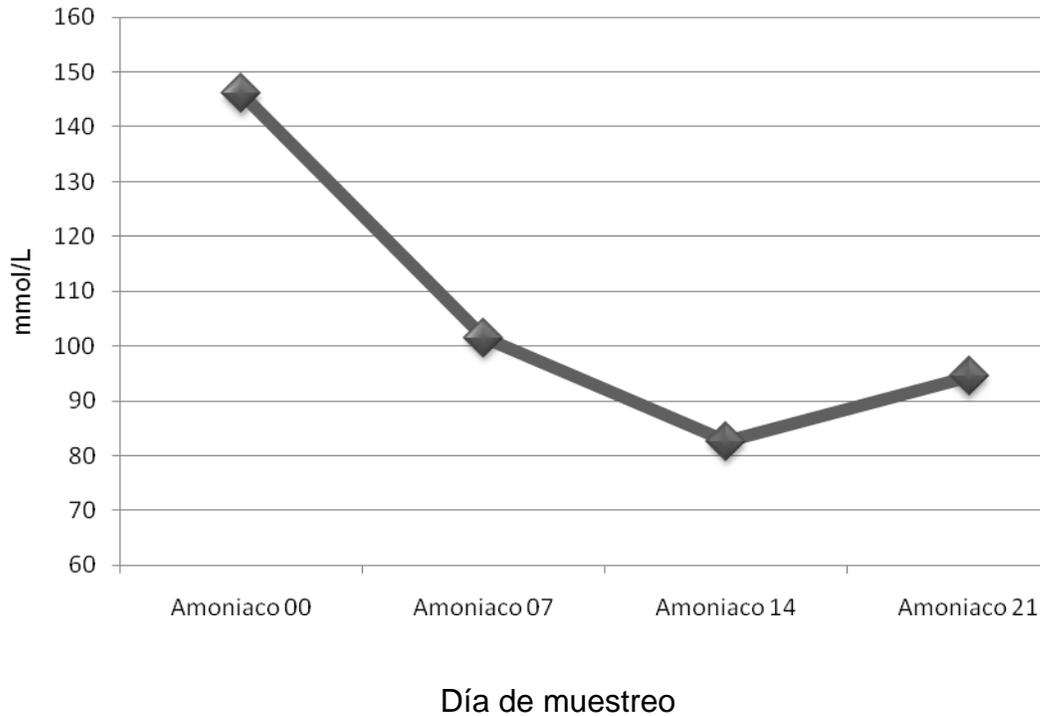


Figura 8. Valores promedio de amoniaco en sangre en los animales experimentales a través del tiempo

n=21; efecto de tratamiento: P = .8237; efecto de bloque: P = .7094; efecto de tiempo: P = .0014; interacción tiempo x tratamiento: P = .7880

5. DIGESTIBILIDAD APARENTE

La digestibilidad de la MS no mostró un efecto de tratamiento (Anexo 9). La digestibilidad promedio de la materia seca fue de 50.97%.

La digestibilidad de la PC tampoco mostró un efecto de tratamiento, pero sí hubo un efecto de tiempo (Anexo 9, P < 0.06). En la Fig. 9 puede apreciarse cómo a medida que pasaron las semanas, la digestibilidad de la PC fue disminuyendo.

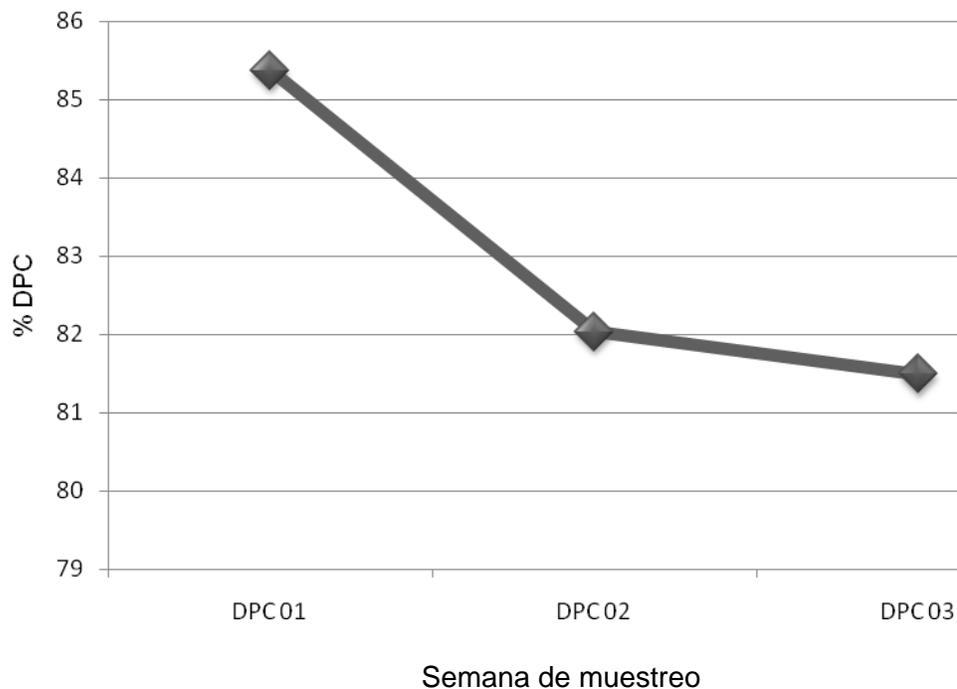


Figura 9. Digestibilidad aparente de proteína cruda (DPC) en los animales experimentales a través del tiempo

n=40; efecto de tratamiento: $P = .7271$; efecto de bloque: $P = .1606$; efecto de tiempo: $P = .0581$; interacción tiempo x tratamiento: $P = .5693$

La digestibilidad del EE mostró una interacción de tratamiento x tiempo (Anexo 9, $P < 0.08$). Esta interacción aparece en la Fig. 10 y, como puede observarse, los tratamientos con bacilo tendieron a mejorar la digestibilidad del EE y los tratamientos con enterococo la disminuyeron.

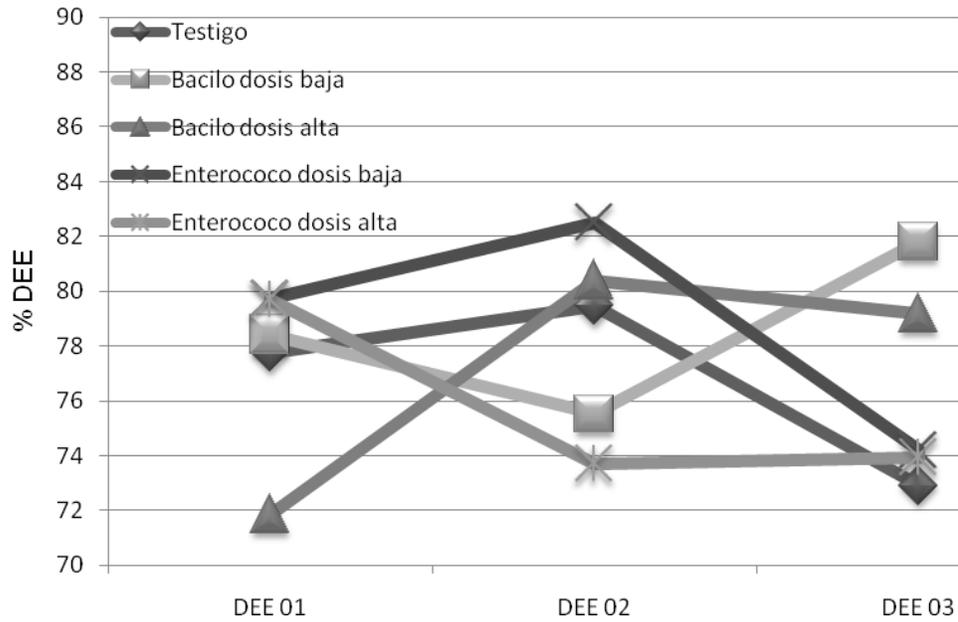


Figura 10. Digestibilidad aparente de extracto etéreo (DEE) en los animales, por tratamiento.

n=40; efecto de tratamiento: P = .9100; efecto de bloque: P = .2032; efecto de tiempo: P = .5138; interacción tiempo x tratamiento: P = .0746

DISCUSION

La adición de probióticos a la dieta de gatos en crecimiento no tuvo efectos adversos ni benéficos en el consumo voluntario ni en el peso. Esta última variable incrementó con el tiempo, como era de esperarse en animales en crecimiento. De hecho, la ganancia diaria de peso promedio de casi 6 g/d 20% fue mayor para los gatitos más jóvenes que para los gatitos de 6 meses en adelante.

Los probióticos tampoco afectaron los valores de hemoglobina, glóbulos blancos, urea en sangre o amoniaco en sangre. El conteo de glóbulos blancos aumentó a partir del día 7, pero los valores estuvieron dentro del rango normal. Las concentraciones de urea y amoniaco en sangre también se mantuvieron dentro de los límites normales, aunque la primera tuvo fluctuaciones y la segunda fue disminuyendo. Como este efecto no estuvo influido por los tratamientos, pues los gatitos testigo presentaron el mismo fenómeno, posiblemente estas observaciones se hayan debido al menor catabolismo proteico, ya que los gatitos estaban creciendo.

Los valores del hematocrito sí se vieron afectados por la inclusión de probióticos, pero se mantuvieron dentro del rango normal, excepto en dos ocasiones: a los 14 días en el tratamiento con bacilos a dosis baja y a los 21 días en el tratamiento con enterococos a dosis baja. Como no hubo signos de enfermedad, es posible que lo observado con el tratamiento de enterococos fuera resultado de la baja calidad de las heces, pues en ese muestreo la calificación fue de 3.6, lo que corresponde a heces muy húmedas, de poca consistencia. Sin embargo, no puede

ofrecerse la misma explicación para el tratamiento con bacilos dosis baja, pues a los 14 días, la calificación de las heces en ese tratamiento fue de 2.2, que corresponde a heces bien formadas, que no dejan marca cuando se recogen. Quizá ese resultado haya sido producto de alguna manera del manejo de los gatitos para el muestreo. La literatura no menciona un efecto de los probióticos en los valores de hematocrito de los gatos.

En un estudio donde se utilizaron gatos geriátricos (25) se observó que el uso de probióticos no alteró el peso, consumo, glóbulos rojos ni bioquímica sanguínea, similar a lo encontrado en este estudio. Sin embargo, los gatos tuvieron una vida más larga, en promedio un año más de vida, y con menos enfermedades que los que no recibieron probióticos. En el presente estudio no se hizo un seguimiento de los animales, por lo que en este punto no podría efectuarse una comparación.

En otro estudio en el cual se dieron probióticos a gatos con problemas renales, se observó una disminución significativa en los valores de BUN y creatinina, independientemente del tratamiento que seguían y del tipo de alimentación (32). Aparentemente, los probióticos son benéficos en gatos con problemas renales, pero en animales sanos, como en este estudio, no modificaron los valores por debajo del rango normal.

Donde sí se observó un efecto contundente de los probióticos fue en la calidad de las heces. La administración de bacilos contribuyó significativamente a mejorar la consistencia fecal. Asimismo, de manera empírica se detectó que los gatitos en los

tratamientos con enterococos tuvieron una mayor producción de gas intestinal y las heces tenían un olor fétido.

Es posible que los enterococos no sean un probiótico adecuado para gatos, a pesar de existir varios estudios en perros, en los que se observa estimulación de la inmunidad en perros jóvenes y adultos (22). Marshall-Jones et al. señalan que los enterococos en gatos están considerados como patógenos oportunistas y que, junto con *Clostridium*, se asocian a infecciones gastrointestinales y diarreas (33). Esto podría explicar la mala calidad de las heces de los gatitos que recibieron enterococos.

La digestibilidad de la PC estuvo dentro del rango para el alimento utilizado en el estudio, 70-80%. Sin embargo, la disminución en la digestibilidad a través del tiempo pudo haber sido un reflejo de la calidad de las heces y haber estado influida principalmente por lo sucedido con los grupos que recibieron enterococo.

La mejoría en la digestibilidad del EE en los tratamientos con bacilos y su empeoramiento en los tratamientos con enterococos también pudo haber sido un reflejo de la calidad de las heces.

CONCLUSIONES

- El uso de probióticos en este estudio no alteró el consumo de alimento, el crecimiento, las variables sanguíneas medidas o la digestibilidad del alimento.
- La calidad de las heces fue mejor en los gatitos que recibieron bacilos.
- No se recomienda el uso de enterococos como probióticos para gatitos por su efecto negativo en la calidad de las heces.

REFERENCIAS.

1. Garssen J, Herreilers M, Van Loveren H. Immunomodulation by probiotics: a literature survey. RIVM 340320001/2003.
2. Quera P Rodrigo, Quigley Eamonn. El rol de los prebióticos, probióticos y simbióticos en gastroenterología. *Gastr. Latinoam.* 2005; Vol. 16, No. 3: 218-228.
3. Rosmini M. R. Producción de probióticos para animales de abasto: importancia del uso de la microbiota intestinal indígena. *Revista Mexicana de Ingeniería Química.* 2004; Vol. 3: 181-191.
4. Cebra, J. J. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; Vol.69: 1046-1051.
5. Snoeyenbos G. H. The gut microflora: The first line of defense of any animal. Department of Veterinary and animal sciences. University of Massachusetts. 2005
6. Ruckebusch, Y. Fisiología de pequeñas y grandes especies. México, D.F. Manual Moderno. 1993.
7. Cunningham J. Fisiología veterinaria. Madrid: Editorial Elsevier, 3a ed. 2003
8. Rastall R. A. Bacteria in the gut: friends and foes and how to alter the balance. *Waltham International Science Symposium 2003:* 2022-2026.
9. Simpson J. Martineau M, Jones B. Characterization of fecal bacterial populations in canines: effects of age, breed and dietary fiber. *Microb. Ecol. Health Disease* 2002, 44: 186-197.
10. Terada. A, Hara Kato. Effect of lacto sucrose on fecal flora and fecal putrefactive products of cats. *Journal Vet Med and Sci* 1992; Vol. 55: 291-295.
11. Adams M, Moss M. *Microbiología de los animales.* Editorial Acribia: 317-328.
12. Álvarez Olmos M. I. Probiotics agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin. Inf. Dis.* 2001; Vol. 32: 1567-76.
13. Garssen J, Herreilers M. Immunomodulation by probiotics: a literature survey. RIVM report 340320001/2003: 2-53.
14. De las Cagigas Ada Lydia, Anesto Jorge B. Prebióticos y probióticos, Una relación beneficiosa. *Revista Cubana Aliment. Nutr* 2002, 16(1): 63-68.
15. Vega Franco Leopoldo. Una década de experiencias en la investigación de probióticos y prebióticos, y su aplicación en medicina. *Revista Médica de Pediatría.* Vol. 72, núm. 3, May-Jun 2005.
16. Vargas Edgar Mauricio. Producción de microorganismos probióticos como aditivo para alimentos concentrados para ganado vacuno. *Revista Ingeniería.* Universidad de los Andes, Colombia. 2004, Vol. 19: 1-11.

17. Escalante A. El potencial de manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana. *Enferm. Infecc. Microbiol.* 2001 21: 106-114.
18. Laflamme D. P, DVM, PhD, DACVN, y B. Martineau, PhD. Como mantener la salud del intestino: el papel de la microflora gastrointestinal. Nestle Purina: Research Report. Vol. 2: 2-7.
19. Vitiñi y col. Gut mucosal immuno stimulation by lactic acid bacteria. *Biocell* 2000, 24: 223-232.
20. Holzapfel Wilhelmtt, Haberer Petra. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr.* 2001, (73 suppl): 3655-73s.
21. Weese J. Scout, Arroyo Luis. Bacteriological evaluation of dog and cat diets that claim to contain probiotics. Ontario Veterinary College. *The Canadian Veterinary Journal.* 2003 Vol. 44(3): 212-215.
22. Rinkinen Minna, Jalava Katri. Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: a risk factor for intestinal *Enterococcus faecium* colonization?. *Veterinary Microbiology.* 2003, 92: 111-119.
23. Weese J. Scott, Anderson Maureen E. C. Preliminary evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG, a potential probiotic in dogs. *The Canadian Veterinary Journal.* 2002, Vol. 43 (10): 771-774.
24. Rastall R. A. Bacteria in the gut: friends and foes and how to alter the balance. American Society for Nutritional Sciences: 0022-3166. 2004
25. Cupp Carolyn J. Effect of nutritional interventions on longevity of senior cats. *Intern J. Appl. Res. Vet. Med.* 2006, Vol. 4 No. 1: 34-50.
26. Loveridge. Comfortable Environmentally Enriched Housing For Domestic Cats. Watham Center for Pet Nutrition. www.awionline.org/pubs/cq/cats.htm.
27. James. A. E. The Laboratory Cat. *ANZCCART News.* Vol. 8, No. 1. March 1995: 1-8.
28. Moxham Glyn. Sistema de puntuación de las heces – una herramienta para los veterinarios y los dueños de los animales de compañía: ¿Cómo califica a su perro? *WALTHAM Focus,* 2001, Vol. 11 No.2: 24-25.
29. Using the IDEXX VetAutoread Hematology Analyzer <http://www.idexx.com/animalhealth/analyzers/vetautoread/howtouse/>
30. El Manual Merck de Veterinaria. Quinta edición en español. Océano grupo editorial, S.A. España 2000.
31. Ford, [Richard B.](#) Mazzaferro [Elisa M.](#) Kirk y Blister Urgencias en veterinaria. Procedimientos y terapéutica. Octava edición. Elsevier Saunders España, 2007.

32. Palmquist Richard, DVM. A preliminary clinical evaluation of kibow biotics, a probiotic agent, on feline azotemia. Centinela Animal Hospital, Inglewood, CA, 2006.
33. Marshall-Jones et al. Effects of *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241 as a probiótico in healthy adult cats. AJVR. Vol. 67 No. 6, UK 2006.

ANEXOS

ANEXO 1. Análisis estadístico del consumo voluntario de los gatitos.

1A. Consumo de alimento

DÍA	TESTIGO	BASILO DOSIS BAJA	BASILO DOSIS ALTA	ENTEROCOCO DOSIS BAJA	ENTEROCOCO DOSIS ALTA
1	56,75	48,56	45,35	58,95	60,75
2	52,00	57,88	46,63	60,88	65,25
3	43,50	56,13	45,00	56,13	58,63
4	49,58	50,13	35,00	51,25	50,13
5	46,75	48,38	34,50	45,13	48,69
6	52,13	52,88	48,63	49,88	55,94
7	46,00	40,50	42,25	43,25	44,50
8	54,75	59,50	56,50	51,88	60,00
9	56,19	50,81	57,06	49,94	39,31
10	60,75	51,38	64,25	55,44	50,31
11	61,44	48,94	59,00	53,88	56,25
12	54,50	57,12	51,31	53,37	50,68
13	58,31	60,56	55,12	57,37	46,93
14	44,88	45,06	41,31	46,38	46,25
15	60,31	63,94	59,25	62,88	56,94
16	52,63	52,00	54,13	52,00	57,19
17	53,75	54,25	56,63	51,50	55,13
18	58,19	55,25	58,19	54,63	60,00
19	57,88	56,44	63,63	52,25	51,94
20	64,06	55,69	64,38	50,38	55,00
21	53,88	47,75	55,13	44,88	50,25

1B. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.0028442	4	27	0.0192		0.9992
Bloque	0.5008738	7	27	1.9319		0.1033
Tiempo	4.6553782	20	8	1.8622		0.1851
Tiempo*tratamiento	0.0106963*	80	33.98		0.9171	0.6324
Tiempo*bloque	0.000022668*	140	66.869		1.8256	0.0038

* Valor de Lambda de Wilks

ANEXO 2. Análisis estadístico del peso.

2A. Peso promedio

TRATAMIENTO	Ganancia Peso
Testigo	43.75
Bacilo dosis baja	46.87
Bacilo dosis alta	49.37
Enterococo dosis baja	38.12
Enterococo dosis alta	51.22

2B. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.0587146	4	28	0.411		0.7992
Bloque	8.8032336	7	28	35.2129		<0.0001
Tiempo	10.852069	2	27	146.5029		<0.0001
Tiempo*tratamiento	0.8623194*	8	54		0.5189	0.837
Tiempo*bloque	0.7065551*	14	54		0.7316	0.7337

* Valor de Lambda de Wilks

ANEXO 3. Análisis estadístico de la calidad de las heces

3A. Medias de score fecal durante los 21 días, por tratamiento.

TX	SF 1	SF 2	SF 3	SF 4	SF 5	SF 6	SF 7	SF 8	SF 9	SF 10	SF11	SF 12	SF 13	SF 14	SF 15	SF 16	SF 17	SF 18	SF 19	SF 20	SF 21
1	2.9	3	2.9	2.9	3	3.1	3	3	3.1	3.1	2.9	2.9	2.8	3	2.9	2.9	3	3	3	3.1	3
2	3.1	3	3	2.7	2.6	2.5	2.5	2.3	2.1	2	2.1	2.2	2.1	2.1	2	2.2	2.1	2.1	2.1	2	2.1
3	3	3	2.8	2.7	2.6	2.6	2.4	2.3	2.2	2.2	2.3	2.2	2.1	2.1	2.3	2.2	2.1	2.1	2.1	2.1	2
4	2.2	2.2	2.3	2.1	2.4	2.6	2.8	2.9	3.1	3.3	3.8	3.8	3.6	3.5	3.6	3.6	3.6	3.5	3.5	3.6	3.5
5	2.3	2.3	2.5	2.5	2.8	3	3.1	3.2	3.3	3.5	3.5	3.8	3.7	3.6	3.6	3.7	3.6	3.5	3.7	3.6	3.6

3B. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	1.9966351	4	28	13.9764		<0.0001
Bloque	0.1149913	7	28	0.46		0.8549
Tiempo	3.3800196	20	9	1.521		0.2636
Tiempo*tratamiento	0.0007437*	80	37.925		2.4698	0.0014
Tiempo*bloque	0.0001749*	140	70.512		1.3498	0.0807

* Valor de Lambda de Wilks

ANEXO 4. Análisis estadístico del hematocrito.

4A. Medias de hematocrito durante las 4 tomas de sangre por tratamiento.

TRATAMIENTO	HCT 00	HCT 07	HCT 14	HCT 21
Testigo	38.21	34.63	30.10	32.95
Bacilo dosis baja	31.13	35.51	26.62	34.10
Bacilo dosis alta	37.96	34.58	30.04	32.18
Enterococo dosis baja	34.88	35.20	33.97	28.48
Enterococo dosis alta	34.56	31.38	31.42	32.65

4B. Medias de hematocrito por bloque a lo largo del tiempo.

BLOQUE	HCT 00	HCT 07	HCT 14	HCT 21
Bloque 2	42.52	33.59	29.25	31.18
Bloque 3	27.99	32.71	26.84	30.98
Bloque 4	41.26	36.22	34.74	34.1
Bloque 7	32.9	33.4	31	33.4
Bloque 8	32.1	35.38	30.33	30.7

4C. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.0942705	4	12	0.2828		0.8835
Bloque	0.8772884	4	12	2.6319		0.0869
Tiempo	1.1293677	3	10	3.7646		0.0482
Tiempo*tratamiento	0.1613081*	12	26.749		2.2132	0.0426
Tiempo*bloque	0.1806707*	12	26.749		2.0269	0.0627

* Valor de Lambda de Wilks

ANEXO 5. Análisis estadístico de hemoglobina.

5A. Medias de hemoglobina por tratamiento a lo largo del tiempo.

TRATAMIENTO	HGB 00	HGB 07	HGB 14	HGB 21
Testigo	12.03	11.30	10.21	10.98
Bacilo dosis baja	10.32	10.88	10.59	10.97
Bacilo dosis alta	12.22	11.16	9.72	10.42
Enterococo dosis baja	11.41	11.36	10.99	9.40
Enterococo dosis alta	11.21	9.98	10.29	10.30

5B. Medias de hemoglobina por bloque a lo largo del tiempo.

BLOQUE	HGB 00	HGB 07	HGB 14	HGB 21
Bloque 2	13.58	10.76	11.02	10.35
Bloque 3	9.04	10.18	9.25	9.81
Bloque 4	13.4	11.52	11.22	11.02
Bloque 7	10.68	10.82	9.78	10.68
Bloque 8	10.49	11.40	10.53	10.22

5B. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.1176963	4	12	0.3531		0.837
Bloque	1.3948324	4	12	4.1845		0.0238
Tiempo	0.9596618	3	10	3.1989		0.0709
Tiempo*tratamiento	0.2777022*	12	26.749		1.3886	0.2313
Tiempo*bloque	0.264447*	12	26.749		1.4561	0.2023

* Valor de Lambda de Wilks

ANEXO 6. Análisis estadístico de glóbulos blancos.

6A. Medias de glóbulos blancos por tratamiento a lo largo del tiempo.

TRATAMIENTO	WBC 00	WBC 07	WBC 14	WBC 21
Testigo	11.22	17.46	17.80	16.90
Bacilo dosis baja	17.60	20.45	17.96	18.09
Bacilo dosis alta	14.08	14.74	16	15.16
Enterococo dosis baja	15.27	17.45	16.05	18.63
Enterococo dosis alta	10.62	13.43	14.40	14.50

6B. Medias de glóbulos blancos por bloque a lo largo del tiempo.

BLOQUE	WBC 00	WBC 07	WBC 14	WBC 21
Bloque 2	9.94	15.06	14.47	13.66
Bloque 3	15.18	16.91	15.10	15.73
Bloque 4	16.14	18.62	18.62	17.06
Bloque 7	13.18	16.52	15.66	16.04
Bloque 8	14.35	16.43	18.37	20.79

6C. Análisis estadístico.

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.5016109	4	12	1.5048		0.2621
Bloque	0.3630171	4	12	1.0891		0.4052
Tiempo	1.4262508	3	10	4.7542		0.0261
Tiempo*tratamiento	0.3467435*	12	26.749		1.0974	0.4011
Tiempo*bloque	0.4265828*	12	26.749		0.8468	0.6054

* Valor de Lambda de Wilks

ANEXO 7. Análisis estadístico de urea en sangre (BUN).

7A. Medias de BUN por tratamiento a lo largo del tiempo.

TRATAMIENTO	BUN 00	BUN 07	BUN 14	BUN 21
Testigo	10.80	8.61	9.66	10.17
Bacilo dosis baja	11.23	9.12	10.59	10.30
Bacilo dosis alta	11.15	9.56	10.67	10.58
Enterococo dosis baja	11.20	9.04	9.89	10.09
Enterococo dosis alta	11.04	9.46	11.67	9.90

7B. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.1419136	4	12	0.4257		0.7873
Bloque	0.2189201	4	12	0.6563		0.6335
Tiempo	5.1148804	3	10	17.0496		0.0003
Tiempo*tratamiento	0.556496*	12	26.749		0.5528	0.8595
Tiempo*bloque	0.4108264*	12	26.749		0.8909	0.5665

* Valor de Lambda de Wilks

ANEXO 8. Análisis estadístico de amoniaco en sangre.

8A. Medias de amoniaco por tratamiento a lo largo del tiempo.

TRATAMIENTO	Amoniaco 00	Amoniaco 07	Amoniaco14	Amoniaco 21
Testigo	159.72	94.62	62.14	96.18
Bacilo dosis baja	138.01	105.24	90.63	106.25
Bacilo dosis alta	129.41	94.35	82.15	74.58
Enterococo dosis baja	155.79	101.58	94.84	98.19
Enterococo dosis alta	125.68	102.91	66.87	78.29

8B. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.1648996	4	9	0.371		0.8327
Bloque	0.2408633	4	9	0.5419		0.7094
Tiempo	7.2887311	3	7	17.007		0.0014
Tiempo*tratamiento	0.4067755*	12	18.812		0.6348	0.788
Tiempo*bloque	0.2488651*	12	18.812		1.0842	0.4241

* Valor de Lambda de Wilks

ANEXO 9. Análisis estadístico de digestibilidad.

9A. Medias de digestibilidad de materia seca (MS) por tratamiento por semana.

TRATAMIENTO	DMS 01	DMS 02	DMS 03
Testigo	55.29	58.79	52.16
Bacilo dosis baja	54.44	42.61	48.13
Bacilo dosis alta	54.86	59.35	60.23
Enterococo dosis baja	52.55	50.91	42.95
Enterococo dosis alta	49.43	39.32	43.59

9B. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.1610139	4	28	1.1271		0.3638
Bloque	0.2195705	7	28	0.8783		0.5358
Tiempo	0.0640567	2	27	0.8648		0.4325
Tiempo*tratamiento	0.737722*	8	54		1.1088	0.3535
Tiempo*bloque	0.7270093*	14	54		0.6666	0.7956

* Valor de Lambda de Wilks

9C. Medias de digestibilidad de proteína cruda (PC) por tratamiento por semana.

TRATAMIENTO	DPC 01	DPC 02	DPC 03
Testigo	83.70	84.05	80.95
Bacilo dosis baja	86.84	79.02	81.82
Bacilo dosis alta	81.53	81.51	82.86
Enterococo dosis baja	89.15	84.77	82.71
Enterococo dosis alta	85.43	81.31	78.34

9D. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.0854304	4	24	0.5126		0.7271
Bloque	0.4911643	7	24	1.684		0.1606
Tiempo	0.2807745	2	23	3.2289		0.0581
Tiempo*tratamiento	0.7603815*	8	46		0.844	0.5693
Tiempo*bloque	0.8692753*	14	46		0.2384	0.9973

* Valor de Lambda de Wilks

9E. Medias de digestibilidad de extracto etéreo (EE) por tratamiento por semana.

TRATAMIENTO	DEE 01	DEE 02	DEE 03
Testigo	77.77	79.46	72.90
Bacilo dosis baja	78.42	75.52	81.79
Bacilo dosis alta	71.84	80.39	79.18
Enterococo dosis baja	79.73	82.50	74.19
Enterococo dosis alta	79.69	73.71	73.93

9F. Análisis estadístico

Fuente de variación	Prueba F	GL		F		P>F
		NUM	DEN	Exacta	Aprox	
Tratamiento	0.0408071	4	24	0.2448		0.9100
Bloque	0.4477204	7	24	1.535		0.2032
Tiempo	0.059612	2	23	0.6855		0.5138
Tiempo*tratamiento	0.5573267*	8	46		0.0746	0.0746
Tiempo*bloque	0.5149922*	14	46		1.2929	0.2484

* Valor de Lambda de Wilks