



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**UTILIZACIÓN DEL PROBIÓTICO (*Bacillus subtilis*) EN GATOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*) EN ETAPA DE CRECIMIENTO Y SU EFECTO EN LA CONCENTRACIÓN DE UREA Y AMONIACO EN SANGRE**

**T E S I S**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**JEHIELI GIRELA ALVAREZ**

**TUTOR PRINCIPAL:**

**MVZ MPA DrC Carlos Gutiérrez Olvera**  
**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM**

**COMITÉ TUTOR**

**MVZ M en C Adriana M. Ducoing Watty**  
**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM**  
**MVZ M en C PhD María Esther Ortega Cerrilla**  
**Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal**

**MÉXICO, D.F**

**OCTUBRE 2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## DEDICATORIAS

A la vida, por el simple hecho de existir.

A mis hijos Hazael y Johan que me siguen acompañando en este camino de aprendizaje, entrega y lucha, son mis confidentes, mi amor incondicional y mi fuerza, porque tuvieron la edad suficiente para compartir conmigo los desvelos, la presión, el llanto y la complicación, para poder finalizar este proyecto.

A mis padres, a quienes amo mucho y que a pesar de los cambios ocurridos, siguen siendo mi origen, mi esencia, mi genética, mi espejo, mis logros, mi apoyo, mi destino.

A mis hermanas, Gisela y Sheila porque cuando eres un alma que llegó a este mundo, ésta se partió en tres para siempre.

A mi mejor amigo y hermano Oscar Rosales, porque cuando parecía que esto jamás sucedería, siempre tomaste mi mano, apoyaste tu cabeza con la mía, compartiste mis desvelos y me entregaste en tus oraciones.

A los 18 gatitos de mi experimento.

A Jehieli, la niña interna que siempre sigue abriéndose paso por mi mente.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi comité tutor: Dr. Carlos Gutiérrez Olvera, MC Adriana M. Ducoing Waity y Dra. Ma. Esther Ortega Cerrilla, por el apoyo y las enseñanzas durante mi formación en el posgrado.

A mi jurado: Dr. Gerardo Garza Malacara, Dr. Joaquín Aguilar Bobadilla, Dr. Mauricio Trujillo Roldán y Dr. Gerardo Quiroz Rocha, por su apoyo en la revisión de la tesis y sus recomendaciones para la mejoría de este trabajo experimental.

A la FMVZ, por permitirme ser parte de sus graduados en el posgrado de Maestría en Ciencias de la Salud y la Producción Animal.

A la FES Cuautitlán, por ser mi fuente de enseñanza y de trabajo, la cual me permitió continuar con mis estudios de maestría.

Al Dr. Carlos Gutiérrez, por haberme aceptado como una de sus estudiantes en el posgrado, por su enseñanza en el área de la Nutrición y siempre presionar para poder concluir con este proyecto.

A la MC Adriana Ducoing, por apoyarme en mis análisis estadísticos.

A la Dra, Esther Ortega, porque a pesar del tiempo, apoyó con gran velocidad mis revisiones para poder finalizar este logro.

Al Dr. Miguel Angel Cornejo Cortes, mi amigo, mi colega, mi apoyo académico, gracias por segunda ocasión, por darme fortaleza, ánimo, conocimiento y paciencia para este proceso de graduación.

Al Dr. Dionicio Cordova del CENID, por su asesoramiento, paciencia y aprendizaje, porque me hizo comprender y aprender de forma rápida y real.

**Trabajo realizado con el apoyo del programa UNAM-DGAPA-PAPIME PE204811y UNAM-DGAPA-PAPIIT IN218212**

**El presente trabajo también fue posible gracias a la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT. Y se agradece la valiosa colaboración de la Dra. Krimilda Valle y al Dr. Francisco Gómez por el apoyo con el producto CALSPORIN®; NUTEK SA DE CV.**

Es interesante como el camino que vas forjando te pareció difícil en un tiempo y momento. Y sin embargo, la tierra muchas veces no fue tan dura como lo creíste...

Algunas personas valiosas en tu vida pudieron creer más en tu potencial y capacidad que tú mismo, y ahí es donde radica la importancia de conocerte y amarte más que a nadie.

Desgastas tu cuerpo, tu mente, tu vida, tu autoestima, tu amor, tu conocimiento, para lograr llegar a tus metas, para seguir compitiendo con la gente, para poder mantener un trabajo y poder lograr un nivel de vida, por lo menos sustentable.

Detente un momento, acaricia tu cuerpo y tu alma, abre los ojos, deja de darle gusto al maltrato cotidiano y dale la bienvenida a tus sueños y a tu libertad...

Porque el tiempo sigue avanzando y mereces vivir la vida que te fue otorgada gratuitamente para sonreír y tocar el cielo.

-Xeyie-

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES</b> .....	5
2.1 Microbiota intestinal.....	5
2.1.1 Funciones de la microbiota.....	5
2.1.1.1 Funciones metabólicas.....	5
2.1.1.2 Funciones de protección.....	6
2.1.1.3 Funciones de absorción.....	6
2.1.1.4 Crecimiento celular epitelial y diferenciación.....	6
2.1.2 Microbiota del gato.....	7
2.2 Propiedades morfofuncionales del intestino grueso.....	10
2.3 Absorción y digestión de nutrientes en el intestino.....	12
2.4 Importancia nutricional de aminoácidos y proteínas en gatos.....	13
2.4.1 Formación de amoníaco y urea.....	14
2.5 Factores que causan alteraciones intestinales.....	17
2.5.1 Factores de estrés en gatos.....	18
<b>CAPÍTULO 3: MARCO TEÓRICO</b> .....	19
3.1 Alimentos funcionales.....	19
3.2 Probióticos.....	19
3.2.1 Características.....	20
3.2.2 Mecanismos de acción.....	21
3.2.3 Uso del género <i>Bacillus</i> dentro de los probióticos.....	22
3.2.3.1 Características de <i>Bacillus subtilis</i> como probiótico.....	22
3.2.3.2 Consideraciones metabólicas de <i>Bacillus subtilis</i> .....	23
3.2.4 Importancia de los probióticos en animales de compañía.....	24
<b>CAPÍTULO 4: JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO</b> .....	25
4.1 Justificación.....	25
4.2 Hipótesis.....	25
4.3 Objetivo general.....	26

4.4	Objetivos específicos.....	26
<b>CAPÍTULO 5: MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>		<b>27</b>
5.1	Modelo animal.....	27
5.2	Alojamiento.....	27
5.3	Alimentación y suplementación.....	28
5.4	Registro de peso.....	32
5.5	Toma de muestras sanguíneas.....	33
5.6	Evaluación de las heces .....	33
5.7	Análisis estadístico.....	35
<b>CAPÍTULO 6: RESULTADOS.....</b>		<b>36</b>
6.1	Amoniaco.....	36
6.2	Urea.....	38
6.3	Consumo voluntario.....	40
6.4	Ganancia de peso.....	41
6.5	Conversión alimenticia.....	42
6.6	Evaluación de la calidad de las heces.....	43
<b>CAPÍTULO 7: DISCUSIÓN.....</b>		<b>44</b>
<b>CAPÍTULO 8: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>		<b>50</b>
<b>CAPÍTULO 9: LITERATURA CITADA.....</b>		<b>51</b>
<b>ANEXOS.....</b>		<b>61</b>

# LISTA DE CUADROS

## CAPÍTULO 2

Cuadro 1: Función de la microbiota en el tracto intestinal normal.....	8
Cuadro 2: Grupos bacterianos predominantes en el tracto intestinal de perros y gatos.....	9
Cuadro 3: Proporciones respectivas del intestino en determinadas especies.....	10
Cuadro 4: Productos finales de la digestión de carbohidratos, proteínas y grasas.....	12

## CAPÍTULO 5

Cuadro 5: Análisis garantizado de alimento utilizado durante el experimento (MS%).....	28
Cuadro 6: Energía metabolizable del alimento utilizado en el experimento.....	29

## CAPÍTULO 6

Cuadro 7: Valores séricos de amoníaco ( $\mu\text{mol/L}$ ) por tratamientos en animales suplementados con probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	36
Cuadro 8: Valores de amoníaco ( $\mu\text{mol/L}$ ) tratamiento entre tiempos en animales suplementados con probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	36
Cuadro 9: Amoníaco sérico ( $\mu\text{mol/L}$ ) interacción tiempo-tratamiento en gatos suplementados con probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	37
Cuadro 10: Valores séricos de urea ( $\text{mmol/L}$ ) por tratamientos en animales suplementados con probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	38
Cuadro 11: Valores de urea sérica ( $\text{mmol/L}$ ) efecto tiempo en gatos del experimento durante la suplementación de <i>Bacillus subtilis</i> .....	38
Cuadro 12: Urea sérica ( $\text{mmol/L}$ ) interacción tiempo-tratamiento en gatos suplementados con probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	39
Cuadro 13: Consumo voluntario (g) entre tratamientos en los gatos suplementados con el probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	40



Cuadro 14: Ganancia de peso (g) por tratamientos de gatos suplementados con <i>Bacillus subtilis</i> .....	41
Cuadro 15: Conversión alimenticia por tratamientos en gatos suplementados con <i>Bacillus subtilis</i> .....	42
Cuadro 16: Análisis de heces por tratamientos de gatos suplementados con probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	43

# LISTA DE FIGURAS

## CAPÍTULO 2

Figura 1: Transdesaminación.....	14
Figura 2: Ciclo de la urea.....	15
Figura 3: Vías catabólicas de glúcidos, aminoácidos y ácidos grasos al ciclo de Krebs.....	16

## CAPÍTULO 5

Figura 4: Jaulas dispuestas en forma vertical en los tres diferentes tratamientos.....	28
Figura 5: Presentación de tableta del probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	31
Figura 6: Administración del probiótico <i>Bacillus subtilis</i> mezclado con alimento húmedo.....	32
Figura 7: Obtención de muestras sanguíneas por venopunción yugular.....	33
Figura 8: Analizador Idexx Vet Test 8008.....	33
Figura 9: Sistema de puntuación de heces.....	34

## CAPÍTULO 6

Figura 10: Consumo voluntario semanal (g) de gatos suplementados con probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	40
Figura 11: Ganancia de peso semanal (g) de gatos suplementados con el probiótico a base de <i>Bacillus subtilis</i> .....	41
Figura 12: Conversión alimenticia de gatos suplementados con el probiótico <i>Bacillus subtilis</i> .....	42

## UTILIZACIÓN DEL PROBIÓTICO *Bacillus subtilis* EN GATOS (*Felis catus*) EN ETAPA DE CRECIMIENTO Y SU EFECTO EN LA CONCENTRACIÓN DE UREA Y AMONIACO EN SANGRE

Con el fin de determinar la eficacia de *Bacillus subtilis* como probiótico adicionado a la dieta de gatos domésticos (*Felis catus*) en etapa de crecimiento, se utilizaron 18 gatos clínicamente sanos (nueve machos y nueve hembras). Todos los gatos tenían una edad promedio entre dos y cuatro meses y un peso entre  $1.55 \pm 0.25$  a  $0.73 \pm 0.20$  kg. La distribución de los gatos se estableció en tres bloques de peso (alto, medio y bajo) y de forma aleatoria se tomaron dos gatos de cada bloque para cada uno de los tres diferentes tratamientos: Grupo 1 Testigo (6 gatos); Grupo 2 Dosis baja del probiótico a concentración de 114 millones de UFC/animal/día (6 gatos); Grupo 3 Dosis alta del probiótico a concentración de 229 millones de UFC/animal/día (6 gatos). A todos los animales experimentales se les proporcionó un alimento comercial específico; siendo el tratamiento 1(testigo) y los tratamientos 2 (dosis baja) y 3 (dosis alta) a los que se les proporcionó además la dosis de probiótico *Bacillus subtilis* en presentación de tableta (diariamente durante 42 días). Se realizaron tres muestreos sanguíneos a los días 0, 21 y 42 de tratamiento en los tres grupos para obtener suero y determinar concentraciones de urea (mmol/L) y amoniaco ( $\mu\text{mol/L}$ ). Otros parámetros también evaluados fueron: a) consumo de alimento (diario), b) ganancia de peso (semanal), c) conversión alimenticia (semanal) y d) evaluación de la calidad de las heces (diaria). En las variables medidas de urea, consumo voluntario, ganancia de peso y conversión alimenticia no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ); sin embargo, sí entre los tiempos ( $p < 0.05$ ). Para el amoniaco sérico, el contenido promedio presentó diferencias en la interacción tiempo por tratamiento ( $p < 0.05$ ). En resultados de evaluación de la calidad de las heces no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). Los resultados obtenidos permiten concluir que con la suplementación con el probiótico *Bacillus subtilis* en gatos sanos (*Felis catus*) éste no provocó cambios significativos entre los tratamientos en las variables medidas, con excepción del amoniaco, pero sí entre tiempos.

**PALABRAS CLAVE:** *Bacillus subtilis*, probiótico, gatos en crecimiento, urea y amoniaco.

## ABSTRACT

This study was conducted to determine the efficacy of probiotic *Bacillus subtilis* as added to the diet of domestic cats (*Felis catus*) in growth age. Eighteen clinically healthy cats (9 males and 9 females) were used. All cats had an average age between 2 to 4 months and weight between  $1.55 \pm 0.25$  a  $0.73 \pm 0.20$  kg. The distribution of cats was established in 3 blocks by weight (high, medium and low) and 2 cats randomly in each block for every one of the three different treatments: Group 1, control (6 cats); Group 2, low dose of probiotic concentration of 114 million CFU / animal / day (6 cats); Group 3, high dose of probiotic concentration of 229 million CFU / animal / day (6 cats). All experimental animals were provided with a specific commercial feed; being treatment 1 (control) and treatments 2 (low dose) and 3 (high dose) were further provided the probiotic *Bacillus subtilis* dose in tablet (daily for 42 days). Three blood samples at days 0, 21 and 42 in the three treatment groups for determining serum urea (mmol/L) and ammonia (mmol/L) concentrations were performed. Other parameters were also evaluated: a) a food intake (daily), b) weight gain (weekly), c) feed conversion (weekly) and d) evaluating the quality of stool evaluation (daily). For the measured variables urea, voluntary intake, weight gain and feed conversion no statistically differences between treatments ( $p > 0.05$ ) were observed; however, it does between times ( $p < 0.05$ ). For serum ammonia, the average content presented differences in treatment time interaction ( $p < 0.05$ ). Results of quality assessment of stool were no significantly different ( $p > 0.05$ ). The results obtained indicate that supplementation with the probiotic *Bacillus subtilis* in healthy cats (*Felis catus*) caused no significant changes between treatments in the variables measured, except for ammonia, but did between times.

**Keywords:** *Bacillus subtilis*, probiotic, growing cats, urea and ammonia.

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

Los seres humanos tienen una historia larga y compleja de asociación con perros y gatos. Esta relación tiene sus raíces en la domesticación y ha evolucionado con el tiempo; considerándose la principal razón por la que las personas comparten sus vidas con perros y gatos, buscando una compañía (Case *et al.*, 2013).

La alimentación de los animales de compañía tiene algunas características propias que la hacen diferente de la alimentación de los animales de abasto en los que se busca optimizar la producción. Los animales de compañía son considerados en muchas ocasiones como miembros de la familia y se les trata como tal. Esto implica que no sólo se busca alimentarlos sino suministrarles la cantidad de nutrientes correcta (equilibrada) para optimizar su salud, mejorar su actividad y longevidad (Boixeda *et al.*, 2000).

El conocimiento de la nutrición básica y los requerimientos nutricionales de perros y gatos sanos, es esencial para comprender las prácticas de alimentación (Case *et al.*, 2013); donde la principal función de los alimentos en la dieta de los animales es proporcionar nutrientes: proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas entre otros. La energía también es fundamental dentro de la dieta. Sin embargo, en la actualidad se busca que los alimentos contengan un beneficio adicional mejorando la salud de forma preventiva y terapéutica (Garssen *et al.*, 2003).

A través de la evolución, en el intestino se desarrolló una estrecha relación entre la microbiota intestinal y la salud de los individuos; demostrándose que estos microorganismos tienen una función primordial de protección para la integridad del epitelio intestinal frente a las infecciones (Quera y Quingley, 2005). Actualmente es posible manipular la variedad de la microbiota intestinal a través de la dieta, constituyendo una alternativa idónea para fomentar las propiedades funcionales hacia un efecto benéfico sobre el huésped; existiendo un creciente interés en el diseño de alimentos con aditivos (suplemento, complemento) funcionales que favorezcan el desarrollo de la microbiota deseable. Dentro de las estrategias desarrolladas para administrar aditivos podemos mencionar tres: probióticos que consisten en cepas (bacterias) seleccionadas; prebióticos que son ingredientes alimentarios no digeribles (fibra alimenticia, fructooligosacáridos e inulina) que favorecen el desarrollo específico de la microbiota deseable y simbióticos que contienen una combinación de probióticos y prebióticos (Vázquez, 2009).

Los probióticos se definen como: organismos vivos encontrados en suplementos dietéticos, que tras su ingestión en cantidades adecuadas son capaces de ejercer un efecto benéfico sobre el huésped, sin que éstos tengan estrictamente un valor nutritivo (Sanz *et al.*, 2004). En seres humanos el uso de los probióticos es muy conocido y activo; sin embargo, el conocimiento sobre el mecanismo de acción de éstos es aún limitado en animales de compañía, por lo que los avances en este ámbito posibilitarán su utilización de manera definida para cubrir necesidades específicas en especies animales.

La finalidad de este estudio, es proporcionar información científica sobre el uso del probiótico *Bacillus subtilis* en la nutrición de gatos sanos (*Felis catus*).

## CAPÍTULO 2

### ANTECEDENTES

#### 2.1 Microbiota intestinal

El tracto intestinal de los animales contiene diferentes tipos de microorganismos, a los cuales se les conoce como “microbiota intestinal”. Por mucho tiempo, la microbiota intestinal ha generado interés porque los microorganismos están involucrados en múltiples procesos fisiológicos en el hospedero, perpetuando así salud o enfermedad (García, 2013). Dentro de estos procesos están: la resistencia contra la colonización por patógenos (Stecher y Hardt, 2001), la producción de sustancias útiles que actúan como fuente de energía para las células epiteliales (Louis y Flint, 2009), la modulación del sistema inmunitario intestinal (Hooper y Mcpherson, 2010) y la captación de energía a partir de componentes de la dieta sin digerir (Cummings y Macfarlane, 1997). A cambio, los microorganismos residentes obtienen como beneficio un ambiente ideal para sobrevivir; constituyendo una simbiosis benéfica entre el huésped y su microbiota (Duerkop *et al.*, 2009).

##### 2.1.1 Funciones de la microbiota

El uso de animales criados bajo condiciones libres de patógenos, ha proporcionado información importante acerca del efecto fisiológico y patológico de la comunidad microbiana en el huésped. La evidencia obtenida a través de estos estudios, sugiere que la microbiota intestinal tiene importantes funciones metabólicas: protección, absorción, crecimiento celular epitelial y diferenciación (Falk *et al.*, 1998).

##### 2.1.1.1 Funciones metabólicas

Dentro de las principales funciones metabólicas de la microbiota están: la fermentación de residuos alimenticios no digeribles y de moco endógeno producido por el epitelio (Cummings *et al.*, 1997). El metabolismo de la microbiota intestinal representa una parte importante de toda la actividad bioquímica que se desarrolla en el organismo y tiene una gran influencia en el estado nutritivo y de salud del individuo (Guarner, 2003). Las funciones metabólicas de la microbiota intestinal

permiten: la generación de nutrientes asimilables a partir de compuestos complejos no digeribles en la porción inicial del tracto intestinal (polisacáridos); la mejoría de la digestión y biodisponibilidad de nutrientes de la dieta (lactosa y minerales) mediante el aporte de enzimas o la estimulación de actividades endógenas relacionadas con su utilización; el aporte de nuevos nutrientes (vitaminas), mediante su síntesis o acumulación y la reducción de compuestos perjudiciales o antinutrientes (amoníaco, fitatos) por asimilación, degradación o inhibición (Sanz, 2004). También contribuyen a la acidificación del medio por la producción de ácidos grasos de cadena corta (**AGCC**) que favorecen la protonación del amoníaco a ion amonio, limitando su difusión en sangre y aumentando su excreción fecal lo que finalmente disminuye la uremia (Tunland *et al.*, 2002).

#### **2.1.1.2 Funciones de protección**

Barrera protectora: los ácidos grasos de cadena corta que son generados por las bacterias, desempeñan diferentes funciones a nivel local (intestinal) y sistémico (Hooper, 2002); se considera que estos pueden contribuir a la función barrera protectora del epitelio intestinal, al acidificar el medio debido a la actividad fermentativa que inhibe el desarrollo y la colonización de patógenos. Así como; la producción de elementos tóxicos derivados de su metabolismo (amonio, compuestos fenólicos, aminas) (Fanaro, 2003). El ácido butírico constituye la principal fuente de energía para los colonocitos estimulando la proliferación celular, regulando la apoptosis y la composición del moco (Hooper, 2002).

#### **2.1.1.3 Funciones de absorción**

Los ácidos grasos de cadena corta favorecen la absorción de minerales (calcio, magnesio y hierro) clínicamente relevantes para el tratamiento y prevención de osteoporosis y la anemia. Efectos producidos, como consecuencia de la reducción del pH luminal que aumenta la solubilidad y favorece la absorción por difusión pasiva (Teitelbaum *et al.*, 2002).

#### **2.1.1.4 Crecimiento celular epitelial y diferenciación**

Posiblemente el papel más importante de los ácidos grasos de cadena corta en la fisiología colónica es su efecto trófico (nutricional) sobre el epitelio intestinal. La diferenciación de las células



epiteliales es afectada considerablemente, debido a la interacción con microorganismos residentes. Los tres ácidos grasos más importantes (acético, propiónico y butírico) estimulan la proliferación celular epitelial y la diferenciación tanto en el intestino delgado como en el intestino grueso (Guarner *et al.*, 2003).

Las células más abundantes en la superficie intestinal son los enterocitos, éstos poseen membranas que junto con las uniones estrechas que forman con las células adyacentes, se vuelven esenciales para prevenir la penetración bacteriana mientras se permite el flujo constante de nutrientes hacia los tejidos. Los enterocitos también tienen un papel importante en la promoción de la compartimentación de las bacterias simbióticas, al secretar una gran variedad de péptidos antimicrobianos (defensinas y catelicidinas). Éstas promueven la muerte bacteriana al provocar una modificación en la integridad de la pared celular bacteriana; estos péptidos antimicrobianos son producidos de forma gradual o pueden ser inducidos por bacterias (Hooper *et al.*, 2003).

La superficie del intestino también posee otras células menos abundantes que ayudan a limitar la penetración bacteriana a los tejidos. Las células caliciformes que son originadas por células de Lieberkühn; secretan una gran cantidad de mucina (proteína altamente glucosilada) formando una capa protectora de moco sobre la superficie del epitelio. La capa de moco está conformada por dos estratos: externo, que se encuentra colonizado por bacterias e interno, que es resistente a la penetración bacteriana formando una zona de protección adyacente a la superficie epitelial (Duerkop *et al.*, 2009). Otras células originadas también por las de Lieberkühn; son las de Paneth, que secretan la gran mayoría de proteínas antimicrobianas producidas por el intestino y albergan gránulos secretores que tienen proteínas microbicidas que incluyen defensinas y lisozimas. Estas células cuando perciben señales bacterianas, reaccionan descargando sus gránulos microbicidas al interior del lumen intestinal controlando así, la penetración hacia la mucosa tanto de bacterias simbióticas como de patógenas (Duerkop *et al.*, 2009; Hooper *et al.*, 2003).

### **2.1.2 Microbiota del gato**

La colonización microbiana del tubo intestinal de los gatos, comienza al nacer y la composición de la microbiota intestinal se parece a la de los gatos adultos ya, en las primeras semanas de vida (Simpson, 2011). Osbaldiston y Stowe (1971) comenzaron las primeras investigaciones sobre la composición de la microbiota intestinal en gatos, en su estudio encontraron colonias de: coliformes, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. y *Lactobacillus* spp., los grupos de bacterias predominantes a lo largo del tubo digestivo. En otros estudios encontraron, *Bacteroides* spp. y *Clostridium* spp.,

las bacterias más comunes en el duodeno de los gatos (Papasouliotis *et al*, 1998) basado en cultivos bacterianos. La composición de la microbiota intestinal puede ser influida por ciertos factores externos como la dieta. Sin embargo, la microbiota es resistente a la mayoría de las influencias ambientales restaurando rápidamente su equilibrio normal. Cada compartimento intestinal, alberga un microbioma único debido a las diferencias anatómicas y fisiológicas existentes en cada porción intestinal. Los microorganismos habitan nichos que les proveen sustratos y nutrientes que provienen del hospedero para sus funciones especializadas y a cambio proporcionan productos y metabolitos útiles para éste (Cuadro 1) (Suchodolski, 2011).

**Cuadro 1**  
**Función de la microbiota en el tracto intestinal normal**  
**Tomado de Suchodolski (2011)**

<b>Actividad microbiana</b>	<b>Productos</b>	<b>Representativas</b>
<b>Descarboxilación, desaminación de aminoácidos.</b>	Amoniaco.	<i>Clostridium</i> spp., <i>Peptostreptococcus</i> spp., <i>Peptococcus</i> spp.
<b>Desconjugación / deshidroxilación de ácidos biliares.</b>	Ácidos biliares secundarios (colato/desoxicolato).	<i>Clostridium hiranonis</i> , <i>Lactobacillus</i> spp.
<b>Síntesis de vitaminas.</b>	Vitamina K <sub>2</sub> , B <sub>12</sub> , biotina, ácido fólico.	<i>Enterococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Sphingomonas</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp.
<b>Fermentación de carbohidratos.</b>	Lactato, propionato, acetato, butirato.	<i>Clostridium cluster XIVa</i> , <i>Prevotella</i> spp., <i>Faecalibacterium</i> spp., <i>Bifidobacterium</i> spp.
<b>Fermentación de aminoácidos.</b>	Hidrógeno, metano, aminas, fenoles, amoniaco, ácidos orgánicos de sulfito de hidrógeno.	Bacterias reductoras de sulfato, <i>Desulfovibrio</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Peptostreptococcus</i> spp.
<b>Degradación de oxalato.</b>	Formato y dióxido de carbono.	<i>Oxalobacter formigenes</i> .
<b>Degradación de inulina y almidón.</b>	Lactato.	<i>Bifidobacterium</i> spp.
<b>Metabolismo de Hidrógeno, alcoholes y ácido acético.</b>	Metano y dióxido de carbono.	<i>Methanobacterium</i> spp.

Los gatos tienen concentraciones intestinales de microorganismos significativamente más altas que los perros, alcanzando concentraciones de hasta 10<sup>8</sup> UFC/g (unidades formadoras de colonia por

gramo) en el duodeno (Johnston, 1993). Las principales bacterias encontradas en el duodeno son: el microorganismo aeróbico *Pasteurella* spp y los anaerobios *Bacteroides* spp, *Eubacteria* spp y *Fusobacteria* spp (Simpson, 2011). Los conteos bacterianos en colon van de  $10^9$  a  $10^{11}$  UFC/g de contenido. *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. y *Enterobacteriaceae* spp. son grupos predominantes de bacterias cultivadas en perros y gatos. Las bacterias aerobias y anaerobias facultativas se encuentran en mayor cantidad en el intestino delgado y las anaerobias predominan en el intestino grueso (Cuadro 2) (Suchodolski, 2011).

**Cuadro 2**  
**Grupos bacterianos predominantes en el tracto intestinal de perros y gatos**  
**Modificado de Suchodolski (2011).**

Resultados de cultivos		Resultados gen 16S RNA	FISH <sup>1</sup>	
Grupo bacteriano	Cantidad Log *UFC/g	Grupo bacteriano	Grupo bacteriano	
<b>Intestino delgado.</b>	Barras en espiral	3.0 a 6.8	Clostridios.	
	<i>Bacteroides</i> spp.	0 a 5.5	Enterobacterias.	
	<i>Lactobacillus</i> spp.	1.0 a 5.4	Lactobacilos.	
	<i>Streptococcus</i> spp.	3.0 a 5.2	Bacteroides.	
	<i>Escherichia coli</i> .	2.3 a 5.0	Campylobacterias.	N/A
	<i>Clostridium perfringens</i> .	1.0 a 2.5	Actinomyces.	
			Fusobacterias. Pasterelas. Espiroquetas.	
<b>Intestino grueso.</b>	<i>Bacteroides</i> spp.	7.3 a 10.2	Aeromonadales.	<i>Bacteroides</i> spp.
	<i>Bifidobacterium</i> spp.	8.0 a 10.0	Bacteroides.	<i>Bifidobacterium</i> spp.
	<i>Clostridium perfringens</i> .	5.5 a 8.0	<i>Bifidobacterium</i> spp.	<i>Clostridium</i> cluster IX.
	<i>Clostridium</i> spp.	7.3 a 9.5	Coriobacterias.	<i>Clostridium</i> cluster XI.
	<i>Escherichia coli</i> .	6.4 a 8.6	Clostridios.	<i>Clostridium histolyticum</i> .
	<i>Lactobacillus</i> spp.	5.5 a 9.0	Enterobacterias.	<i>Desulfovibrio</i> spp.
	<i>Prevotella</i> spp.	7.0 a 8.5	Coliformes.	<i>Escherichia coli</i> .
		Fusobacterias. Lactobacilos.	<i>Eubacterium</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp..	

\*UFC/g: unidades formadoras de colonias por gramo.

<sup>1</sup>FISH: Hibridación in situ fluorescente.

N/A: No aplica.

El tracto intestinal de los gatos es relativamente corto en comparación con los perros. Debido a que los gatos son considerados carnívoros estrictos y utilizan la mayoría de los nutrientes de la carne,

que requieren menos superficie y longitud de área para la digestión. El ciego, colon y el recto constituyen las tres partes del intestino grueso donde se produce la fermentación de la materia orgánica no digerida y donde se absorben líquidos, electrolitos, minerales y metabolitos bacterianos (Pibot, 2010).

## 2.2 Propiedades morfofuncionales del intestino grueso

A diferencia del intestino delgado, el intestino grueso carece de vellosidades lo que le atribuye una mejor capacidad de absorción (Chivers, 1980). Las funciones más importantes:

a) absorción de agua y electrolitos con eficiencia, ya que no poseen mecanismos de transporte activo, b) secreta moco debido a que el contenido es más seco y favorece el transporte, expulsión de excretas o heces y c) fermentación bacteriana (digestión) (Desai *et al.*, 2009) (Cuadro 3).

**Cuadro 3**

**Proporciones respectivas del intestino en determinadas especies.**

**Modificado de: \*Barone, 1984; \*\*Meyer y col., 1993; \*\*\*Dukes, 1984**

	<b>Perros</b>	<b>Gatos</b>	<b>Hombre</b>
<b>Intestino delgado*</b>	1.7 – 6 m	1.0 – 1.7 m	6.0 – 6.5 m
<b>Intestino grueso*</b>	0.3 – 1.0 m	0.3 – 0.4 m	1.5 m
<b>Peso relativo del tracto digestivo/peso corporal**</b>	2.7 % (perros grandes). 7% (perros pequeños).	7%	10%
<b>Tamaño corporal/longitud intestinal***</b>	1/6	1/4	1/5

Probablemente porque no hubo la necesidad evolutiva para desarrollar un gran espacio de fermentación (Chivers y Hladik, 1980), el intestino grueso de los gatos se caracteriza por la existencia de microbiota muy densa con una gran actividad metabólica. *Pctinobacteria spp* y *Firmicutes spp* son bacterias encontradas en intestino grueso (Desai *et al.*, 2009). También se encuentran miembros de la familia *Clostridiaceae spp*, *Proteobacterias spp* y *Bacteroides spp* (Tun *et al.*, 2012). Estos microorganismos también producen ácidos grasos de cadena corta (De las Cagigas *et al.*, 2002) los cuales, son productos de la fermentación bacteriana de las fibras, que son una importante fuente de energía para los colonocitos, se absorben por difusión en el intestino grueso y contribuyen a la salud intestinal (Boudreau, 1978; Drackley, 1998).

El butirato es considerado de importancia en la salud colónica de los humanos, pero se conoce poco en el caso de la salud intestinal de los gatos. Sin embargo, bacterias productoras de butirato son las más comúnmente encontradas en las heces de estos felinos (Hamer, 2008).

Las bacterias del colon son capaces de digerir parte de las fibras no digeribles y otros nutrientes de la dieta que escapan a la digestión del intestino delgado. Los productos de esta digestión bacteriana contribuyen con el olor y color característicos de las heces de los felinos, donde los residuos alimenticios que no se digieren, las células que se desprenden, las bacterias y las secreciones endógenas que no se absorben, constituyen la materia fecal que oportunamente alcanzará el recto y será excretada del cuerpo (Smeets, 1998). Las características fecales pueden ser afectadas por la cantidad y el tipo de materia no digerible que se presenta en la dieta de los perros y gatos. Por ejemplo, cuando las proteínas no digeridas alcanzan el intestino grueso, la degradación bacteriana produce las aminas indol y escatol. Además, se produce sulfuro de hidrógeno a partir de los aminoácidos sulfurados de las proteínas inadecuadamente digeridas o no digeridas (Brosley, 2000). El sulfuro de hidrógeno, los indoles y los escatoles, dan un fuerte olor a la materia fecal y el gas intestinal. El grado de desarrollo de flatulencias y fuerte olor fecal en gatos que son alimentados con sustancias poco digeribles varía de acuerdo con la cantidad y el tipo de alimento administrado y la microbiota colónica de cada animal (Morris, 2000).

Es con base en lo anterior, que las investigaciones en la nutrición de los animales de compañía comenzaron; encontrándose que la relación entre la microbiota intestinal y la salud de los individuos era importante. Estos estudios han demostrado que estos microorganismos tienen una función importante de protección de la mucosa intestinal frente a las infecciones. El pH del colon varía entre 4.5 y 7.5. Al generarse un cambio en la composición de la microbiota cambia también la actividad enzimática intestinal (Quera, 2005). Un pH menor a cuatro en el intestino grueso favorece a las bacterias ácido tolerantes, potencializando el crecimiento de las bacterias anaerobias y provocando una alta concentración de sulfatos; aumentando así, el crecimiento de las bacterias sulfato reductoras.

Se ha demostrado que la dieta posee una influencia en la composición de la microbiota por la cantidad y calidad de proteínas procesadas del alimento, concentración de fibra alimentaria, hidratos de carbono digeribles y la presencia de aditivos (probióticos) (Marshall Jones *et al.*, 2006).

### 2.3 Absorción y digestión de nutrientes en el intestino

Al comienzo del consumo del alimento, se desencadenan sobre él procesos químicos y físicos, los cuales inducen la ruptura de la unión química de los nutrientes complejos a través de enzimas, antes de ocurrir la absorción de los productos finales de la digestión (Cuadro 4).

**Cuadro 4**  
**Productos finales de la digestión de carbohidratos, proteínas y grasas**  
**Tomado de Case (2011)**

<i>Nutrientes</i>	<i>Enzimas</i>	<i>Productos Finales</i>
<b>Carbohidratos</b>	Amilasa, lactasa, Sucrasa, maltasa.	Glucosa, galactosa y fructosa.
	Dipeptidasa	Dipéptidos.
<b>Proteínas</b>	Aminopeptidasa	Aminoácidos libres.
	Pepsinógeno, pepsina, nucleotidasa, nucleosidasa, tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasa, nucleasa.	
<b>Grasas</b>	Lipasa intestinal.	Glicerol.
	Lipasa pancreática.	Ácidos grasos. Monoglicéridos, diglicéridos.

La absorción de nutrientes se lleva a cabo en el intestino delgado a través de varios procesos: a) difusión pasiva (gradiente osmótico) como los electrolitos y el agua; b) difusión facilitada (transporte de grandes moléculas), a través de la membrana celular asociadas a un gradiente de presión y c) transporte activo, relacionado con proteínas transportadoras localizadas en las membranas de los enterocitos, en contra del gradiente de concentración y por lo tanto requiere un gasto de energía (Case, 2011; Daristotle, 2011).

Carbohidratos simples, algunos aminoácidos simples, di y tri péptidos son absorbidos a través de un proceso activo ligado al transporte de sodio (Mellanby, 2005; Sato, 1993). Pequeños péptidos absorbidos hacia la célula, se hidrolizan a aminoácidos simples antes de liberarse hacia la circulación portal, azúcares y aminoácidos son absorbidos hacia los capilares de las vellosidades y por medio de éstos, ingresan en la vena porta hacia el hígado (Case, 2011; Daristotle, 2011). El hígado procesa los monosacáridos y los aminoácidos absorbidos, algunos monosacáridos se convierten en glucógeno como forma de almacenamiento de carbohidratos y cierta cantidad de glucosa se secreta directamente hacia la circulación. Algunos aminoácidos, se liberan hacia el

torrente sanguíneo donde circulan hacia los tejidos para ser absorbidos por las células y el exceso de aminoácidos se convierte en aminoácidos no esenciales o es metabolizado por el hígado para la obtención de energía (Case, 2013).

En la absorción de las grasas, hay interacción de micelas que contienen ácidos biliares, monoglicéridos, diglicéridos y ácidos grasos de cadena larga y debido a que son miscibles con agua, tienen la capacidad de viajar hacia las microvellosidades donde se rompen y sus partículas de grasa son absorbidas por las células (Mellanby, 2005).

## **2.4 Importancia nutricional de aminoácidos y proteínas en gatos**

Los requerimientos proteicos comparativamente altos de los gatos, se deben a sus altas necesidades en el mantenimiento del recambio de las proteínas corporales, más que a sus demandas para el crecimiento (Mellanby, 2005). Las proteínas provienen de distintos orígenes: a) proteínas exógenas vía ingestión; b) proteínas endógenas y c) de recambio metabólico. Constituidas básicamente por carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N); aunque algunas pueden contener también azufre (S) y fósforo (P) y en menor proporción diversos elementos como hierro (Fe), cobre (Cu), magnesio (Mg) o yodo (I). Las proteínas son biomoléculas constituidas por la unión de cadenas de aminoácidos, que tienen bajo peso molecular y se caracterizan por poseer un grupo amino ( $-NH_2$ ) y un grupo carboxilo ( $-COOH$ ) (Sánchez, 2010).

La proteólisis, es el proceso de degradación de las proteínas. Su digestibilidad varía según la configuración y composición de los aminoácidos que la compongan. Los aminoácidos tienen dentro de sus funciones: el transporte óptimo de nutrientes, liberación de moléculas, mediante las cuales se forman otras (Purinas, Pirimidinas, base de Porfirinas), son fuente importante de energía en dos procesos fisiológicos: 1. exceso de proteínas por ingesta y 2. estado de ayuno (Sánchez, 2010).

Las proteínas no se almacenan como la glucosa o las grasas, pero sí son degradadas o catabolizadas en un grupo amino y un esqueleto carbonado que consta de dos fases: I: Remoción del grupo amino (excreción); transaminación (formación de nuevos aminoácidos) y II: Desaminación oxidativa (formación de un ión amonio); ruptura del esqueleto carbonado (para formar intermediarios energéticos).

En la desaminación directa u oxidativa, el carbono del glutamato que sustenta el grupo amino es oxidado y se expulsa como grupo amonio ( $NH_4^+$ ). El ión amonio producto de la

desaminación oxidativa del glutamato resulta tóxico para las células y debe ser transportado al hígado y transformado para ser excretado (Figura 1) (Case, 2013).



**Figura 1**  
**Transdesaminación**  
**Tomado de Cotto (2013)**

El hígado es el órgano principal de la degradación de aminoácidos, pero también se produce en tejidos extra hepáticos como el tejido muscular. El exceso de amoniaco generado en otros tejidos (extra hepáticos) se transporta al hígado para su conversión en la forma que se excretan: El ion amonio producto de la degradación de las proteínas musculares es llevado al hígado en forma de alanina a través del ciclo glucosa-alanina. Esto le permite al músculo eliminar el amonio y disponer de glucosa. Este ion amonio finalmente generado en el hígado lo transforma en un compuesto que pueda excretarse sin que haya pérdida importante de agua; lo convierte en urea (ureotélicos-mamíferos) (Sánchez, 2010; Daristotle, 2011; Case, 2013).

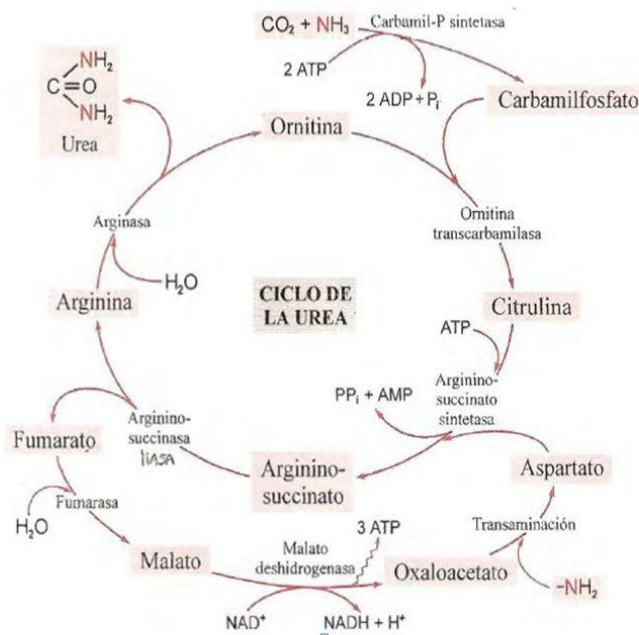
#### 2.4.1 Formación de Amoniaco y urea

El amoniaco ( $\text{NH}_3^+$ ) es producido por células que se encuentran en todo el cuerpo especialmente en los intestinos, hígado y riñones (Case, 2013). La mayor parte del amoniaco que el organismo produce es biotransformado por el hígado en urea; ésta también es un residuo pero es mucho menos tóxica que el amoniaco. El amoniaco es especialmente tóxico para el cerebro (Correa, 2004; Case, 2013). Una parte del amoniaco es producido a partir de urea y se utiliza para la síntesis de proteínas



bacterianas que se elimina en las heces por lo tanto, éste se incrementa en la excreción fecal (Younes, 1997).

El gato presenta requerimientos proteicos sustancialmente más altos que otros mamíferos, como los perros (Mellanby, 2005; Sato, 1993). Esta necesidad se debe, a que los gatos requieren mantener el equilibrio de nitrógeno (Rogers, 2008). Los elevados requerimientos proteicos, son el resultado de la incapacidad de las enzimas catabolizadoras de aminoácidos y nitrógeno presentes en el hígado del gato para disminuir su actividad de forma efectiva en una respuesta a una mejor ingesta de proteínas (Rogers, 2008). Mamíferos que reciben dietas ricas en proteínas desencadenan la acción de las enzimas involucradas en el catabolismo de los aminoácidos, la eliminación del nitrógeno y la gluconeogénesis, aumentan su actividad para usar los carbonos del eje central de los aminoácidos excedentes y convertir el exceso de nitrógeno en urea para su excreción. Por el contrario, cuando se administran dietas pobres en proteínas, la actividad de estas enzimas disminuye (regulación negativa) lo que permite la conservación de aminoácidos para la síntesis de proteínas corporales y conduce a una menor producción de nitrógeno a través del ciclo de la urea (Figura 2) (Russell, 2002; Rogers, 2008).



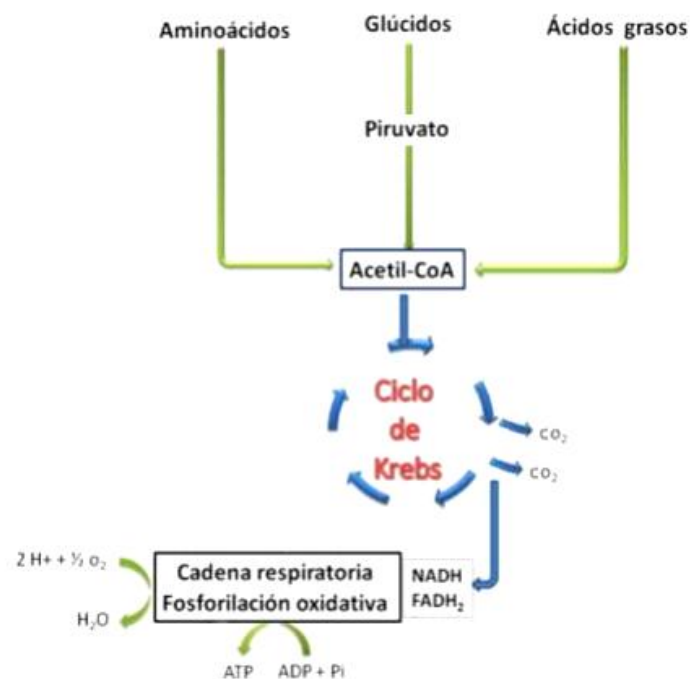
**Figura 2**

**Ciclo de la Urea**

**Tomado de Blanco (2007)**

El flujo de nitrógeno (N) a través del ciclo de la urea dependerá de la composición de la dieta rica en proteínas, que provoca un aumento en la oxidación de aminoácidos, amonio y urea (enzimas del

ciclo elevadas). Según el metabolito que forme su esqueleto carbonado encontramos aminoácidos: *Glucogénicos*; su esqueleto carbonado se transforma en metabolitos que originan glucosa. *Cetogénicos*; el esqueleto carbonado se transforma en metabolitos que originan cuerpos cetónicos. *Mixtos*; su esqueleto carbonado se transforma en metabolitos que originan glucosa y cuerpos cetónicos. En condiciones fisiológicas la mayor parte de los aminoácidos originan intermediarios del ciclo de Krebs (Correa, 2004). El ciclo de Krebs (de los ácidos tricarbónicos o el ácido cítrico) es una vía metabólica presente en todas las células aerobias, es decir, las que utilizan oxígeno como aceptor final de electrones en la respiración celular. En los organismos aerobios las rutas metabólicas responsables de la degradación de los glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos convergen en el ciclo de Krebs, que a su vez aporta poder reductor a la cadena respiratoria y libera CO<sub>2</sub>, como se observa en la figura 3. Los aminoácidos pueden dar indirectamente acetil-CoA o directamente intermediarios del ciclo de Krebs.



**Figura 3**

**Vías catabólicas de glúcidos, aminoácidos y ácidos grasos al ciclo de Krebs.**

**Tomado de Monza (1999)**

Existen por lo tanto, factores que pueden controlar la hidrólisis de la urea: la demanda de amoniac para la síntesis de proteína bacteriana, la cantidad de urea transferida al sitio de hidrólisis, la actividad de las ureasas bacterianas y la disponibilidad de otra fuente de nitrógeno (Younes *et al.*,

1997). La cantidad de urea y amoníaco colónico depende de la disponibilidad de carbohidratos fermentables para el mantenimiento de la alta actividad de las ureasas. La transferencia de urea es proporcional al gradiente de concentración de urea a través de la pared del colon. En consecuencia, en presencia de carbohidratos fermentables (oligosacáridos, los cuales tienen efectos osmóticos y favorecen la actividad ureolítica) y en caso de hiperuremia esta transferencia en el colon puede llegar a ser considerable (Younes *et al.*, 1997).

La urea podría ser utilizada en el íleon distal el cual presenta alta permeabilidad para esta molécula; sin embargo, la población bacteriana en el íleon terminal es solo una milésima parte o menos que la encontrada en colon; así la transferencia de urea para el colon puede ser mayor porque el tiempo de tránsito en el colon es más largo (Arias, 2014).

La incorporación de amoníaco en proteína bacteriana conduce a una pérdida irreversible de nitrógeno a través de la ruta fecal y es significativa cuando la cantidad de carbohidratos fermentables es alta (Arias, 2014)

## **2.5 Factores que causan alteraciones intestinales**

Los desórdenes intestinales en los animales de compañía que responden al manejo nutricional incluyen: proliferación bacteriana en el intestino delgado, diarrea con respuesta a antibióticos, proliferación de patógenos, varios tipos de desórdenes inflamatorios y diarrea aguda inespecífica (Williams, 1996; Westermarck, 2005). La proliferación bacteriana en el intestino delgado ocurre cuando hay cambios cuantitativos y cualitativos en la población bacteriana dentro de la luz de la porción superior o proximal del intestino delgado (Williams, 1996; Westermarck, 2005). En un animal sano las poblaciones bacterianas aumentan en número desde la parte proximal hacia la parte distal de forma anatómica del tubo gastrointestinal (Batt, 1996).

El peristaltismo normal ayuda a limitar la población bacteriana en la porción proximal del intestino delgado por medio de un “arrastre” bacteriano regular hacia la parte distal. La reducción de la motilidad permite que haya un mayor sustrato disponible para las bacterias intestinales lo que puede conducir a un aumento de las poblaciones microbianas y cambio en el equilibrio de la flora normal. En animales sanos existen muchos géneros y especies de microorganismos intestinales en un equilibrio comensal que promueven el funcionamiento digestivo e inmune normal (lactobacilos, bacteroides, fusobacterias) (Balish, 1977; Batt, 1996).

Cuando un cambio en la población normal de microorganismos permite la proliferación de una o más especies bacterianas patógenas, puede producirse una enfermedad clínica que produce

daño en el huésped por la producción de toxinas carcinógenas o compuestos putrefactos que pueden afectar directamente la mucosa intestinal, causar enfermedad sistémica e inhibir el desarrollo de bacterias benéficas. Uno de los patógenos intestinales más comunes en los animales de compañía es *Clostridium perfringens* (Batt, 1996; Tiwedt, 1993). Las poblaciones microbianas son susceptibles a cambios dentro del lumen del intestino y pueden ser afectadas por estrés, infección, administración de antibióticos, factores nutricionales, problemas de motilidad y la inmunosupresión (Batt, 1996; Tiwedt, 1993).

### **2.5.1 Factores de estrés en los gatos**

Situaciones de estrés provocan que muchos gatos sufran alteraciones en su comportamiento, como puede ser; marcar con orina, agresividad, depresión, ansiedad. El estrés implica una respuesta de adaptación ante el cambio, pero algunos gatos no se adaptan adecuadamente o el tiempo de adaptación es largo (Vivas, 2008). Hay muchas situaciones habituales potencialmente estresantes para un gato y deben ser manejadas adecuadamente durante la crianza felina (Valentina, 2009).

El estrés puede producirse por cambios en su territorio (cambios físicos, número de gatos, número de personas). El gato divide su territorio en zonas de descanso, comida, juego, eliminación y exploración mediante la utilización de marcas olfativas y visuales: El marcaje facial, consiste en depositar feromonas familiares sobre su entorno. Es una actividad individual, diaria y necesaria para el reconocimiento como familiar de su entorno. Esta marca es olfativa y su fin es el propio gato y no otros gatos. La desaparición de las feromonas faciales por cambios en su entorno provoca la desorganización de éste y la aparición de cuadros de estrés (Vivas, 2008; Valentina, 2009). Las actividades que pueden causar estrés en los gatos son: a) cambios de hábitat (cambios de entorno y marcas faciales perdidas); b) construcción o pintura (movimiento excesivo de personas, materiales y nuevos olores); c) nuevas personas en el lugar (sólo si causa cambios en el entorno); d) presencia de nuevos gatos (competencia por los recursos, originando ansiedad) (Valentina, 2009).

Gutiérrez *et al.*, (2003) menciona que el estrés puede ocasionar episodios de acidosis metabólica, que es el principal contribuyente al catabolismo proteico por vía proteolítica ubiquitina-proteosoma dependiente de ATP. La acidosis estimula el catabolismo de aminoácidos esenciales de cadena ramificada al incrementar la oxidación acelerando el catabolismo de proteínas musculares esqueléticas (proteína endógena), lo que da como resultado una mayor producción de derivados de la digestión como el amoníaco.

## CAPÍTULO 3

### MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Alimentos funcionales

La función primaria de los alimentos es proveer nutrientes y energía. Estos nutrientes pueden incluir macronutrientes (proteínas, grasas, carbohidratos, fibra y agua) y micronutrientes (minerales, vitaminas y diversos elementos en cantidades traza). Los alimentos también poseen la función secundaria de brindar satisfacción sensorial en su sabor, textura y color. Una tercera función encontrada recientemente es la capacidad que tiene el alimento de modular sistemas fisiológicos (inmunes, endócrinos, nerviosos, circulatorios y digestivos) más allá de sus efectos nutricionales. Alimentos que cumplen con estas funciones son llamados "Alimentos funcionales" (Garssen *et al.*, 2003).

Un alimento funcional se define como *"aquella que contiene un componente nutricional o no nutricional con efecto selectivo por encima de su valor nutricional sobre una o varias funciones del organismo donde sus efectos positivos mejoran la salud y el bienestar y/o reduciendo el riesgo de enfermedad"* por el Instituto internacional de ciencias de la vida (Ashwell, 2004).

#### 3.2 Probióticos

Los probióticos han sido definidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura; con sus siglas en inglés FAO, 2002 como: *"microorganismos vivos que ejercen una acción benéfica sobre la salud del huésped al ser administrados en cantidades adecuadas"*. También se les conoce como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprotectores (Blanco *et al.*, 2002).

Gracias a la observación del microbiólogo ruso Elie Metchnikoff, del Instituto Pasteur (Nagendra, 2007), quien por primera vez afirmó que *"la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la microbiota de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles"* propuso la teoría de que productos lácteos fermentados contienen bacterias que ayudan en el proceso de descomposición en el intestino, contrarrestan la formación de aterosclerosis y extienden la vida. Se pensó que estos

efectos eran debidos a la presencia de *Lactobacillus*, aunque poco después se comprobó que estos productos fermentados contenían predominantemente *Lactobacillus acidophilus* (Nagendra, 2007).

Las bacterias que se encuentran de manera natural en el intestino se denominan "autóctonas" y éstas colonizan el intestino como resultado de la exposición ambiental y alimentación; las bacterias "alóctonas" se introducen al tubo digestivo como suplementos dietarios a través del alimento o agua de bebida (Chichlowski, 2007).

En la alimentación animal los probióticos son definidos como "*formas vivas de microorganismos que son aplicados como aditivo alimenticio para fomentar el equilibrio de la flora intestinal, tiene efectos favorables para el animal*" (Fuller, 1989). Los probióticos son utilizados en la alimentación humana y alimentación animal principalmente como alternativas al uso de antibióticos y son empleados como promotores del crecimiento. Su uso en humanos busca la promoción de beneficios a la salud a largo plazo. En el caso de implementarlos en animales es que su uso provoque efectos a corto plazo. Algunos parámetros productivos como el incremento de la masa corporal, la conversión alimenticia y la disminución en la frecuencia de diarreas son utilizados como "efectos favorables" del uso de probióticos (Simón, 2005).

No existe una clase universal de bacterias probióticas; se utilizan bacterias autóctonas como es el caso de las bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus spp*) y bacterias alóctonas como las bacterias formadoras de esporas (*Bacillus spp*) (Hong, 2005). 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 los más empleados (Hassan y Frank, 2001). La especie utilizada determina en forma directa el tipo de beneficio que el aditivo pueda tener así como, la concentración, la dosis y la viabilidad microbiana (Weese, 2002).

### **3.2.1 Características**

Para que un microorganismo pueda ser incorporado como aditivo, tiene que cumplir con los postulados de Huchetson:

1. ser habitante normal de la microbiota intestinal, 2. tener un tiempo corto de reproducción, 3. no patógeno, 4. no presentar ningún signo de toxicidad, 5. capaz de producir compuestos antimicrobianos, 6. no promover resistencia hacia antibióticos, ni interferir con efectos benéficos de lactobacterias, 7. ser resistentes a la acidez gástrica y a lisis por la bilis. Tener la capacidad de adherirse al epitelio, modular la respuesta inmunológica del huésped, poder colonizar el intestino y mantener el equilibrio entre la microbiota intestinal normal y las bacterias patógenas. Debe existir evidencia clara de sus efectos benéficos y deben ser estables durante el proceso de producción,

comercialización y distribución para llegar vivo al intestino. Importante, que sea capaz de atravesar la barrera gástrica para poder llegar al sitio de acción (Simón, 2005).

Los probióticos son utilizados en gran medida en la terapéutica para el tratamiento de enfermedades o afecciones intestinales como la diarrea idiopática y asociada al estrés. Así como, en infecciones bacterianas; donde estos probióticos son utilizados como promotores de la salud y las bacterias más comúnmente utilizadas y estudiadas son; *Lactobacillus spp* y *Bifidobacterium spp*, aunque algunas levaduras y especies de *Enterococcus spp* también son usadas como promotores de ganancia de peso en animales de producción (Marshall-Jones, 2006).

Desde el punto de vista productivo, según Angel (2013), los probióticos provocan modificaciones de los procesos digestivos y metabólicos de los animales, que se traducen en aumentos de la eficiencia y utilización de los alimentos, mejorando significativamente la ganancia de peso, conversión alimenticia y consumo de alimento. Por lo tanto, se pretende siempre conseguir una buena situación sanitaria y un excelente rendimiento en carne para obtener resultados rentablemente económicos.

Para García (2012), la solución más adecuada para asegurar el rendimiento de la alimentación, con progresiva ganancia de peso, es la prevención de variaciones en la flora, asegurando la presencia de un número suficiente de bacterias benéficas, capaces de dominar el medio e inhibir el desarrollo de los patógenos.

### **3.2.2 Mecanismos de Acción**

Los efectos positivos y diversos modos de acción en general de los probióticos, son los siguientes:

- 1) Restauran el equilibrio ecológico intestinal normal.
- 2) Protegen al huésped de la colonización de patógenos intestinales al reducir el pH intraluminal inhibiendo el crecimiento de agentes patógenos y mediante la producción de bacteriocinas u otros péptidos antimicrobianos, como las defensinas (Escalante, 2001).
- 3) Aumentan la función de la barrera de la mucosa al estimular la fosforilación de la actina y la ocludina en las uniones estrechas.
- 4) Reducen la absorción intestinal de compuestos potencialmente tóxicos como el amoniacio debido a la disminución del pH intestinal (Rami *et al.*, 2011).
- 5) 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 (Laflamme, 2007).

- 6) Tienen efecto sobre el sistema inmunológico aumentando las concentraciones 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 (Holzapfel, 2001).
- 7) Producen vitaminas: las bifidobacterias producen vitaminas del complejo B.
- 8) Disminuyen la producción de enzimas como la glucuronidasa, la glucosidasa, la nitroreductasa y la ureasa. Estas enzimas participan en la activación metabólica de los mutágenos y carcinógenos (Torres, 1999).
- 9) Efecto protector por antagonismo (competencia de nutrientes en sitios de adhesión) (Penna, 1998).

*Bacillus subtilis* sintetiza una amplia gama de metabolitos entre ellas natocinasas, que son un tipo de proteasa de serina con acción fibrinolítica, aminocoumacina A; que es un antibiótico con actividad contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Shigella flexneri*, *Campylobacter jejuni* y *Helicobacter pylori*, e isocoumarina que es una proteasa (Hong, 2005; Cutting, 2011).

### **3.2.3 Uso del género *Bacillus* dentro de los probióticos**

Entre las especies ampliamente estudiadas se encuentra *Bacillus subtilis*, *B. clausii*, *B. cereus*, *B. coagulans* y *B. licheniformis*.

La producción de endosporas es una característica típica de todas las bacterias de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*. Las esporas del género *Bacillus* son estables al calor y por lo tanto proveen ventajas frente a otras que no forman esporas (*Lactobacillus spp*) como, que pueden ser almacenadas a temperatura ambiente en forma desecada sin algún pH gástrico bajo y la dosis total de bacterias ingeridas alcanzarán el intestino delgado de forma intacta, por lo que este microorganismo ha sido utilizado como probiótico en productos utilizados como suplementos y/o complementos en humanos principalmente por desórdenes gastrointestinales provocados por antibióticos (Cutting, 2011).

#### **3.2.3.1 Características de *Bacillus subtilis* como probiótico**

*Bacillus subtilis* es una bacteria Gram positiva no patogénica que produce endosporas, las cuales resisten factores físicos perjudiciales (temperatura, desecación, radiación, a los ácidos y desinfectantes químicos) crece lentamente y poco en medio rico de cultivo TSA (Tryptisoy Agar). Identificándose su presencia, con la tinción de esporas según Schaeffer-Fulton (Morales, 2014).



Estos microorganismos viven en límites de temperatura (55-70°C); pueden soportar un pH bajo (2-3), lo que permite su paso a través de la barrera gástrica, donde las esporas germinan en el intestino delgado y son capaces de poblar brevemente el tracto intestinal.

*Bacillus*, se adhiere firmemente a la mucosa intestinal; reduce la exposición de los agentes tóxicos a las células de la mucosa y la cantidad de patógenos intestinales como: *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* y *Salmonella spp*; reducir la emisión de agentes patógenos, mejorar el entorno de reproducción mediante la reducción de la concentración de gases nocivos y amoníaco (Phalakornkule *et al.*, 2005).

Durante el uso de *Bacillus subtilis* como probiótico, se ha encontrado que mejora la función inmune de los animales y mejora la resistencia a la enfermedad. El empleo de probióticos a base de *Bacillus spp* y sus endosporas, está encaminado a mejorar el balance microbiano intestinal, inhibir el crecimiento de bacterias dañinas, producir enzimas hidrolíticas (proteasas, amilasas y glicosidasas) para mejorar la utilización de los alimentos, desdoblado las moléculas más complejas y transformándolas en moléculas simples, ayudando a incrementar los contenidos de bacterias ácido lácticas en el tracto intestinal, favoreciendo así la acidez del intestino (Bautista, 2014).

### **3.2.3.2 Consideraciones Metabólicas de *Bacillus subtilis***

Su metabolismo puede ser aerobio, anaerobio o fermentativo. Dentro del metabolismo aerobio de *Bacillus subtilis* la cadena respiratoria es la fase final para la obtención de ATP. *B. subtilis* crece aeróbicamente si la fuente de carbono en el medio puede ser metabolizado, de tal manera, que la energía producida permita su crecimiento. Cuando el alimento escasea, el microorganismo entra en esporulación donde utiliza sus productos del metabolismo fermentativo (como el acetato) por lo que presenta poco crecimiento (Errington *et al.*, 2003). *Bacillus subtilis* realiza una fermentación característica, en la que los productos principales son 2-3 butanadiol, glicerol y dióxido de carbono acompañados de pequeñas cantidades de lactato y etanol. No puede crecer de forma anaerobia a expensas de glucosa probablemente porque no puede reducir la triosa a fosfato o glicerol (Errington *et al.*, 2003).

Durante el crecimiento de *B. subtilis* en glucosa, sin limitación de oxígeno, se produce ácido acético como subproducto. Esto sucede como respuesta a un exceso en el flujo de entrada de glucosa y por tanto a un incremento en el flujo glucolítico a ácido pirúvico, el cual, la célula es incapaz de utilizar en su totalidad para biosíntesis en el ciclo de Krebs (Phalakornkule *et al.*, 2000); este fenómeno ocurre cuando existe glucosa en el medio, en concentraciones suficientes. Está reportado que cuando hay limitación de oxígeno, *B. subtilis* lleva a cabo la fermentación ácido

mixta y formación de butanadiol a partir de ácido pirúvico, el cual es convertido por la piruvato deshidrogenasa en acetilCoA (Nakano *et al.*, 1997).

Otra característica es, que produce enzimas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos, permitiendo que el organismo pueda emplear estos productos como fuente energética. Crecen bien en medios sintéticos que contienen azúcares, ácidos orgánicos y alcoholes. *Bacillus* es una de las 40 especies reconocidas que tienen capacidad motora, muestra velocidad de crecimiento alta, fácil reconocimiento, debido a que es catalasa y Voges-Proskauer positivo, positivo a la hidrólisis del almidón (Cutting, 2011).

#### **3.2.4 Importancia de los probióticos en animales de compañía**

Los probióticos se han utilizado terapéuticamente en perros y gatos enfermos, en el tratamiento de la diarrea o profilácticamente para minimizar daños en la microbiota intestinal por el uso de antibióticos o por gastroenteritis. Los médicos veterinarios han utilizado las preparaciones comerciales de uso humano para este tipo de problemas dando buenos resultados en la mayoría de los casos (García, 2012). Perros y gatos que llegan a vivir en refugios o cachorros y gatitos que son vendidos en tiendas de mascotas o mercados se ven amenazados por infecciones, estrés, un nuevo hogar, cambios de dieta, etcétera (Adams, 1997). Todas son condiciones que pueden tener efectos en la microbiota intestinal de perros y gatos lo que puede afectar la resistencia de la mascota a enfermedades y por lo tanto puede ser benéfica la utilización de probióticos (García 2012).

Es posible suponer que la administración de probióticos en gatos, tenga 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, al reducir la producción de amoníaco y por consiguiente la carga de urea. Las bacterias intestinales sintetizan ureasa que convierten la urea en amoníaco y dióxido de carbono (Reid, 2010). 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 (Vázquez, 2009).

Los cultivos de *Bacillus spp* y sus endosporas estimulan la respuesta inmunológica favoreciendo la diferenciación de células supresoras o estimuladoras y como resultado final mejora los rendimientos productivos (Espinosa, 2005).

## CAPÍTULO 4

### 4.1 JUSTIFICACIÓN

El uso de probióticos en medicina humana ha traído muchos beneficios a la salud de las personas. Los probióticos han sido utilizados en perros y gatos terapéuticamente en el tratamiento de alteraciones del tubo digestivo o profilácticamente para minimizar los daños causados a la composición de la microbiota intestinal debido al uso de antibióticos o alteraciones gastroentéricas. Los médicos veterinarios han utilizado las preparaciones comerciales de uso humano para este tipo de problemas obteniendo resultados benéficos en la mayoría de las ocasiones.

Es importante crear información científica mediante trabajos experimentales controlados en gatos sanos (*Felis catus*) para mostrar los beneficios o los problemas que puede provocar la suplementación de probióticos en su dieta diaria, probando los efectos de estos suplementos sobre los valores de diversos analitos sanguíneos como urea y amoniaco, así como en el consumo diario, conversión alimenticia, ganancia de peso y la calidad en las heces.

La administración de bifidobacterias como probióticos ha sido recomendada por veterinarios para su uso en gatos. Sin embargo, prácticamente no existen estudios sobre el uso de probióticos en esta especie.

La finalidad de este estudio fue obtener información que permita determinar si el uso del probiótico *Bacillus subtilis* en gatos puede tener efectos benéficos en su salud.

### 4.2 HIPÓTESIS

La complementación con el probiótico *Bacillus subtilis* en la alimentación de gatos domésticos sanos (*Felis catus*) disminuirá significativamente las concentraciones de urea y amoniaco séricos.

## OBJETIVOS

### 4.3 Objetivo general

Evaluar el efecto de *Bacillus subtilis* adicionado como probiótico en la dieta de gatos sanos (*Felis catus*) en etapa de crecimiento sobre la concentración de urea y amoniaco séricos, el consumo de alimento, la ganancia diaria de peso, la conversión alimenticia y la calidad de las heces.

### 4.4 Objetivos específicos

Asociado al suplemento de un probiótico basado en *Bacillus subtilis* en gatos en etapa de crecimiento, se hicieron las siguientes determinaciones (antes, durante y después de la suplementación):

- Cuantificar la concentración de urea y amoniaco séricos.

Durante la suplementación:

- Cuantificar el consumo de alimento.
- Cuantificar la ganancia de peso.
- Cuantificar la conversión alimenticia.
- Evaluación de la calidad de las heces.

Se evaluó la información anterior, para determinar la eficiencia del uso del probiótico.

## CAPÍTULO 5

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### 5.1 Modelo animal

Se emplearon 18 gatos domésticos sanos (*Felis catus*) nueve hembras y nueve machos en etapa de crecimiento (entre dos y cuatro meses de edad) cuyos pesos oscilaban de  $1.55 \pm 0.25$  a  $0.73 \pm 0.20$  kg, ninguno de ellos fue esterilizado para evitar modificaciones en su conducta.

En todos los gatos se realizó una anamnesis verificando los siguientes parámetros: temperatura corporal, frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria, las cuales presentaron valores promedio dentro de límites de referencia; integridad tegumentaria, aspecto saludable y estaban libre de parásitos externos. Los animales fueron desparasitados utilizando "PET GARD" tabletas, de CPMax (dosis de 30 mg/kg de albendazol, 100 µg/kg de ivermectina y 5 mg/kg de prazicuantel). Con lo anterior, los animales se consideraron clínicamente sanos y aptos para participar en la fase experimental.

Las muestras de gatos (18) se dividieron en tres bloques (cada uno con 6 individuos) de acuerdo a su peso: 1) pesos altos en promedio  $1.55 \pm 0.25$  kg; 2) pesos medios en promedio  $1.15 \pm 0.09$  kg y 3) pesos bajos en promedio  $0.73 \pm 0.20$  kg y se seleccionaron aleatoriamente, dos gatos de cada bloque para que recibieran uno de tres tratamientos:

1-(sin probiótico); 2-(probiótico a dosis baja) y 3-(probiótico a dosis alta).

#### 5.2 Alojamiento

Los animales se alojaron (domicilio particular) en dieciocho jaulas individuales (Figura 4) plegables de acero, pintadas de color negro (no tóxico) puerta con cerrojo individual y charola contenedora de heces/orina, con medidas en centímetros de: 37, 50, 58 (L x A x H) equipadas con platos de plástico (10 cm de diámetro) y bebederos con balón (capacidad de 500 ml). Las instalaciones fueron adaptadas con base en las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999; así como especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y del documento "Comfortable Environmentally Enriched Housing For Domestic Cats" (Vivienda confortable y medio ambiente enriquecido, para gatos domésticos) (Loveridge, 1994).



**Figura 4**

**Jaulas dispuestas en forma vertical en los tres diferentes tratamientos.**

Los gatos tenían periodos de juego y libertad de 30 minutos tres veces al día con atención individual. Durante estos períodos tenían acceso a rascaderos y juguetes para gatos (pelotas, juguetes de hilo y juguetes colgantes).

**5.3 Alimentación y suplementación**

*Alimentación.-* Se utilizó como alimento un extrudizado comercial (Cat Chow® gatitos de Purina) que contiene los nutrientes necesarios. El contenido del alimento (análisis garantizado) mencionado en su empaque se describe en la Cuadro 5.

**Cuadro 5**

**Análisis garantizado del alimento utilizado durante el experimento (MS%)**

<b>Nutriente</b>	<b>% de inclusión</b>
<b>Proteína cruda (PC)</b>	36.0
<b>Grasa cruda (GC)</b>	11.0
<b>Fibra cruda(FC)</b>	3.0
<b>Humedad</b>	12.0
<b>Cenizas</b>	8.0
<b>Calcio</b>	1.1-1.6
<b>Fósforo</b>	1.0-1.05
<b>Taurina</b>	0.16

Mediante esta información se determinó la cantidad de energía metabolizable del alimento mediante el empleo de factores *Atwater* modificados para su uso en gatos (Cuadro 6).

**Cuadro 6**  
**Energía metabolizable del alimento utilizado en el experimento.**

Nutriente	Factor de ajuste ( <i>Atwater</i> )	Kcal/gramo
<b>Proteína cruda: 36%</b>	3.5	126
<b>Grasa cruda: 11%</b>	8.5	93.5
<b>Carbohidratos: 30%</b>	3.5	105
<b>Total</b>		<b>324.5 Kcal/100 g</b>

El contenido de carbohidratos del alimento se estimó por sustracción: 100% - % de proteínas - % de grasas - % de fibras - % de cenizas - % de humedad = % de carbohidratos.

Posteriormente se determinó el **requerimiento energético** (acorde a su peso) de la ración para cada uno de los gatos; el cálculo se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$K \times PV$$

En la fórmula, las variables corresponden a:

- K .- Es el nivel de actividad y puede ser: 50 = inactivo, 60 = activo y 70 = muy activo
- PV .- Es el peso vivo del animal expresado en kilogramos

Una vez determinada la **cantidad de energía** que provee el alimento y el **requerimiento energético** del animal, se realizó el cálculo para determinar la ración que consumiría cada gato:

- **Necesidad energética por gato:** 70 x 1.05 kg = 73.5 Kcal EM/día
- **Cantidad de energía metabolizable** del alimento: 324.5 Kcal/100 g

La cantidad de alimento que se ofreció, se estimó dividiendo el requerimiento energético diario de la mascota entre la densidad energética del alimento (Case, 2011) de lo anterior resulta:

$$\frac{73.5 \text{ Kcal EM/día}}{324.5 \text{ Kcal/100 g}} = 23 \text{ g}$$

En promedio, se pueden ofrecer 23 gramos de alimento para cada gato al día, tomando como referencia un peso en particular. Sin embargo, es importante tener en cuenta que cada gato tiene un consumo diferente y que éstos se encontraban en etapa de crecimiento.

En este estudio, no se tomaron en cuenta los valores de consumo antes descritos, debido a que uno de los parámetros medidos fue el consumo voluntario y se requirió el dato de alimento rechazado. Estos cálculos se explican en este trabajo para poder proveer una guía o punto de partida al determinar las necesidades diarias de un gato sano, justificando que este estudio contiene elementos y parámetros nutricionales y de alimentación dirigidos a animales de compañía.

Los gatos fueron alimentados cuatro veces al día en los siguientes horarios 09:00, 13:00, 17:00 y 21:00 h. Se permitieron 20 minutos en cada horario para que los animales consumieran su alimento según las recomendaciones de la literatura (Loveridge, 1994). Diariamente se proporcionó agua limpia y fresca *ad libitum* a todos los animales.

Se ofrecieron 80 gramos de alimento comercial (para cada uno de los gatos) en la primera comida; los platos de alimento se retiraban entre cada horario establecido; al final del día resultaba un sobrante del alimento y se pudo obtener así el valor del rechazo. El **consumo total por animal** se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$CDA = gAS - CAR$$

**CDA:** Consumo diario de alimento

**gAS:** gramos de alimento suministrado

**CAR:** cantidad de alimento restante

Con los datos obtenidos del consumo diario, se obtuvo la **conversión alimenticia** de cada uno de los individuos con la siguiente fórmula:

$$CA = \frac{KgAC}{KgPG}$$

**CA:** Conversión alimenticia

**KgAC:** Kilogramos de alimento consumido

**KgPG:** Kilogramos de peso ganado



**Suplemento.-** Se utilizó el probiótico *Bacillus subtilis* CALSPORIN®, de laboratorios Nutek S.A. de C.V. (tabletas) que consiste en un cultivo seco a base de esporas viables de *Bacillus subtilis* Cepa 3102, 750 millones UFC/tableta; contenido en 2.21g, con capacidad de germinación.

Explicados anteriormente los grupos y el número de animales en cada uno de ellos en la sección de "Modelo Animal", los grupos se nombraron de la siguiente forma:

**Tratamiento 1:** Grupo 1 "**testigo**" se proporcionó solo alimento seco.

**Tratamiento 2:** Grupo 2 "**dosis baja**" se proporcionó alimento seco y **114 millones** de UFC/g por animal.

**Tratamiento 3:** Grupo 3 "**dosis alta**" se proporcionó alimento seco y **229 millones** de UFC/g por animal.

El probiótico se adicionó en la primera comida del día (molido y mezclado) mediante una pequeña porción de alimento húmedo de marca comercial, así como también al grupo testigo (Figura 5).



**Figura 5**  
**Presentación de tableta del probiótico**  
*Bacillus subtilis*.

La porción de alimento húmedo fue utilizada para facilitar la ingesta del probiótico y no se consideró dentro de la cantidad de alimento consumido (Figura 6).

**Figura 6**  
**Administración del probiótico**  
***Bacillus subtilis* mezclado con**  
**alimento húmedo.**



Al no existir referencias sobre la dosis adecuada de *Bacillus subtilis* para su uso en gatos, se utilizó la recomendación del laboratorio. La suplementación tuvo una duración de 42 días.

#### **5.4 Registro de peso**

Para conocer la ganancia de peso promedio por semana, se pesaron los animales los días 8, 15, 22, 29 y 36 del estudio a las 11:00 am, el procedimiento se realizó utilizando una báscula digital (Sartorius, TE410) con capacidad máxima de pesaje de 4100 g y una mínima de 0.1 g.

El pesaje se realizó de manera individual colocando cada uno de los gatos en un recipiente rectangular de plástico (36 cm X 21cm X 10 cm). Con los datos obtenidos de cada registro de peso semanal, se obtuvo la ganancia diaria de peso mediante la siguiente fórmula:

$$\text{GDP} = \frac{\Sigma P/D - PI}{N^{\circ}D}$$

**GDP:** Ganancia de peso

**$\Sigma P/D$ :** Sumatoria de peso por día

**PI:** Peso inicial

**$N^{\circ}D$ :** Número de días.

## 5.5 Toma de muestras sanguíneas

Antes de coleccionar las muestras, los 18 gatos fueron sometidos a un periodo de ayuno de 8 h; la primera muestra se colectó 24 horas antes de comenzar a administrar el probiótico y se consideró como el valor testigo. Posteriormente para reportar si el probiótico tuvo respuesta en cada uno de los gatos se realizaron dos muestreos más con 21 días de diferencia. En los tres casos, la muestra se utilizó para determinar las concentraciones de urea y amoniaco; al final del estudio cada analito se determinó tres ocasiones en cada uno de los gatos.

Las muestras sanguíneas se coleccionaron por veno-punción (vía yugular) utilizando una jeringa insulínica de 1 ml (aguja 22G) estéril (Figura 7) se retiró la aguja y se colocó la sangre en tubos para la recolección y transporte de sangre (vacutainer®) (sin aditivo) de 1 ml y se taparon. Se colocaron los tubos en posición vertical dejando reposar a temperatura ambiente durante 20 minutos hasta que la sangre coagulara. Se retiró el tapón y se transfirió el suero a un tubo para centrifuga. Posteriormente se colocaron los tubos en una microcentrífuga (Biofurge primo R) y se centrifugó a 1500 rpm (5 min). Con el suero obtenido, se realizó el análisis para obtener los valores de los analitos de urea (mmol/L) y amoniaco ( $\mu\text{mol/L}$ ) del estudio, utilizando una pipeta aforada o volumétrica (la cual posee una ampolla calibrada para un volumen único) y procesando las muestras en el Analizador Químico Veterinario Idexx VetTest 8008 (Figura 8) ubicado en el Laboratorio de Microbiología Ruminal del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica FMVZ, UNAM.



**Figura 7**  
**Obtención de muestras sanguíneas por venopunción yugular.**



**Figura 8**  
**Analizador Idexx Vet Test 8008.**

## 5.6 Evaluación de las heces

Calificación del efecto probiótico en la digestión animal, diariamente se observó la materia fecal y se calificó por el sistema de puntuación sugerido por WALTHAM (Moxham, 2001) (Figura 9).



**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.



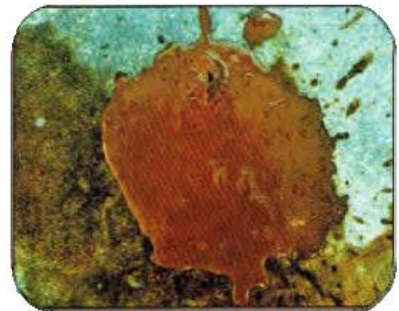
**Grado 3.5:** Muy húmedas pero todavía con una forma definida.



**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 9**

**Sistema de puntuación de heces.**

Tomado de Revista WALTHAM Focus (Moxham, 2001).

## 5.7 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa JMP versión 7.0 elaborado por el SAS Institute. El diseño del estudio es de un solo factor (probiótico a tres niveles) en bloques generalizados al azar con mediciones repetidas en el tiempo. Las respuestas a medir fueron urea (mmol/L), amoniaco ( $\mu\text{mol/L}$ ), consumo voluntario (g), ganancia de peso (g) y conversión alimenticia.

El modelo que corresponde al diseño del estudio, es un modelo univariado mixto para un estudio longitudinal, que considera el comportamiento de las variables respuesta a lo largo del tiempo. Para la variable amoniaco, la interacción tiempo por tratamiento sí resultó significativa y por lo tanto se hicieron comparaciones múltiples con la prueba de Tukey porque permite controlar el nivel global de significancia del experimento, utilizándose el ajuste de Bonferroni. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + G_{k(ij)\text{aleat}} + S_l + t_m + (\alpha t)_{im} + (St)_{lm} + (\alpha St)_{ilm} + \varepsilon_{ijklm}$$

Donde:

$Y_{ijklm}$ : valor de la respuesta del gato k en el tiempo m, con el sexo l, en el bloque j con el tratamiento i.  $i=1,2,3$   $j=1,2,3$ ,  $K=1,2$   $l=1,2$   $m=1,\dots,3(5)$

$\mu$ : respuesta promedio general

$\alpha_i$ : efecto del tratamiento i

$\beta_j$ : efecto del bloque j

$G_{k(ij)\text{aleat}}$ : efecto del gato k anidado en el bloque j y tratamiento i, aleatorio

$S_l$ : efecto del sexo (covariable)

$T_m$ : efecto de tiempo m

$(\alpha t)_{im}$ : efecto de la interacción entre el tratamiento i y el tiempo m

$(St)_{lm}$ : efecto de la interacción entre el sexo l y el tiempo m

$(\alpha St)_{ilm}$ : efecto de la interacción entre el tratamiento i, el sexo l y el tiempo m,

$\varepsilon_{ijklm}$ : error aleatorio del gato k en el tiempo m, con el sexo l, en el bloque j, en el tratamiento i

En virtud de que la conformación de heces se midió en una escala ordinal, se realizó la prueba no paramétrica de *Kruskal Wallis* para realizar la comparación entre tratamientos.

## CAPÍTULO 6

### RESULTADOS

#### 6.1 Amoniaco

Para los valores del analito amoniaco entre tratamientos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (0.1817). Dichos valores se encuentran en el cuadro 7.

**Cuadro 7**

**Valores séricos de amoniaco ( $\mu\text{mol/L}$ ) por tratamientos en animales suplementados con probiótico *Bacillus subtilis*.**

No. Animales	*Referencia ( $\mu\text{mol/L}$ )	Media $\pm$ DE** ( $\mu\text{mol/L}$ )		
		Testigo	Dosis baja	Dosis alta
18	0-80	115.83 $\pm$ 60.1 <sup>a</sup>	158.83 $\pm$ 70.8 <sup>a</sup>	138.83 $\pm$ 69.1 <sup>a</sup>

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

\*Referencia de Bush, (1999). \*\*Desviación Estándar.

Sin embargo, en los valores séricos de amoniaco entre tiempos (Cuadro 8), se encontró diferencia estadística (0.0001) entre el valor de la muestra a los 42 días, con respecto al valor del día 0 y 21.

**Cuadro 8**

**Valores de amoniaco ( $\mu\text{mol/L}$ ) entre tiempos en animales suplementados con probiótico *Bacillus subtilis*.**

No. Animales	*Referencia ( $\mu\text{mol/L}$ )	Media $\pm$ DE** ( $\mu\text{mol/L}$ )		
		Día 0	Día 21	Día 42
18	0-80	175.78 $\pm$ 57.1 <sup>ab</sup>	144.39 $\pm$ 65.3 <sup>ab</sup>	93.33 $\pm$ 32.8 <sup>c</sup>

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

\*Referencia de Bush, (1999). \*\*Desviación Estándar.

Para el contenido promedio de amoniaco sérico, interacción tiempo-tratamiento, se encontró diferencia estadísticamente significativa (0.0467).

Los valores de amoniaco del tratamiento dosis baja a los 21 días, difieren en el contenido promedio de amoniaco del testigo en el mismo tiempo y del contenido promedio de los tres tratamientos (testigo, dosis baja y dosis alta) a los 42 días (Cuadro 9).

En el caso del tratamiento dosis alta al día cero, éste difiere en los valores del contenido promedio de amoniaco de los tres tratamientos (testigo, dosis baja y dosis alta) a los 42 días (Cuadro 9).

Para los valores del tratamiento dosis baja en el día cero, éstos difieren en el contenido promedio de amoniaco del testigo a los 42 días (Cuadro 9).

**Cuadro 9**  
**Amoniaco sérico ( $\mu\text{mol/L}$ ) interacción tiempo-tratamiento en gatos suplementados con probiótico *Bacillus subtilis*.**

<b>MUESTREO (DÍAS)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>NO. ANIMALES</b>	<b>REFERENCIA* (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	<b>Media<math>\pm</math>DE** <math>\mu\text{mol/L}</math></b>
<b>0</b>	Testigo	6	0-80	168.5 $\pm$ 72.4 <sup>abc</sup>
<b>0</b>	Dosis baja	6	0-80	169.3 $\pm$ 46.0 <sup>abc</sup>
<b>0</b>	Dosis alta	6	0-80	189.5 $\pm$ 58.2 <sup>ab</sup>
<b>21</b>	Testigo	6	0-80	105.0 $\pm$ 23.5 <sup>bcd</sup>
<b>21</b>	Dosis baja	6	0-80	203.8 $\pm$ 82.4 <sup>a</sup>
<b>21</b>	Dosis alta	6	0-80	124.3 $\pm$ 24.0 <sup>abcd</sup>
<b>42</b>	Testigo	6	0-80	74.0 $\pm$ 30.2 <sup>d</sup>
<b>42</b>	Dosis baja	6	0-80	103.3 $\pm$ 43.1 <sup>cd</sup>
<b>42</b>	Dosis alta	6	0-80	102.6 $\pm$ 14.9 <sup>cd</sup>

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

\*Referencia de Bush, (1999). \*\*Desviación Estándar.

## 6.2 Urea

El efecto del probiótico a base de *Bacillus subtilis*, sobre la concentración de urea sérica se muestra a continuación. No se encontró diferencia estadísticamente significativa (0.4593) entre tratamientos. (Cuadro 10).

**Cuadro 10**  
**Valores séricos de urea (mmol/L) por tratamientos en animales suplementados con probiótico *Bacillus subtilis*.**

No. Animales	**Referencia (mmol/L)	Media <sup>±</sup> DE** (mmol/L)		
		Testigo	Dosis baja	Dosis alta
18	4.1-10.8	4.75 <sup>±</sup> 4.71 <sup>a</sup>	5.06 <sup>±</sup> 5.56 <sup>a</sup>	4.75 <sup>±</sup> 4.0 <sup>a</sup>

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p <0.05).

\*Referencia de Bush, (1999). \*\*Desviación Estándar.

Sin embargo, en el cuadro 11, se muestra que existió una diferencia significativa (0.0113) en el contenido de urea entre el valor del día 21 y el día 0.

**Cuadro 11**  
**Valores de urea sérica (mmol/L) efecto tiempo en los gatos del experimento durante la suplementación de *Bacillus subtilis*.**

No. Animales	**Referencia (mmol/L)	Media <sup>±</sup> DE** (mmol/L)		
		Día 0	Día 21	Día 42
18	4.1-10.8	5.16 <sup>±</sup> 4.440 <sup>a</sup>	4.45 <sup>±</sup> 3.89 <sup>b</sup>	4.96 <sup>±</sup> 5.13 <sup>ab</sup>

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p <0.05).

\*Referencia de Bush, (1999). \*\*Desviación Estándar.



En el caso de los niveles promedio de urea sérica, interacción tiempo-tratamiento, los valores se muestran en el cuadro 12 y no se encontró diferencia estadísticamente significativa (0.0864).

### Cuadro 12

#### Urea sérica (mmol/L) interacción tiempo-tratamiento en gatos suplementados con probiótico

##### *Bacillus subtilis.*

Muestreo (Días)	Tratamiento	No. animales	*Referencia (mmol/L)	Media <sup>±</sup> DE** (mmol/L)
0	Testigo	6	4.1-10.8	5.58 <sup>±</sup> 4.13a
0	Dosis baja	6	4.1-10.8	5.05 <sup>±</sup> 3.32a
0	Dosis alta	6	4.1-10.8	4.86 <sup>±</sup> 5.19a
21	Testigo	6	4.1-10.8	4.05 <sup>±</sup> 1.21a
21	Dosis baja	6	4.1-10.8	4.69 <sup>±</sup> 5.49a
21	Dosis alta	6	4.1-10.8	4.61 <sup>±</sup> 3.07a
42	Testigo	6	4.1-10.8	4.63 <sup>±</sup> 2.40a
42	Dosis baja	6	4.1-10.8	5.44 <sup>±</sup> 4.20 <sup>a</sup>
42	Dosis alta	6	4.1-10.8	4.80 <sup>±</sup> 4.07 <sup>a</sup>

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

\*Referencia de Bush, (1999). \*\*Desviación Estándar.

### 6.3 Consumo voluntario

Para el efecto del probiótico *Bacillus subtilis* en el consumo voluntario a través del tiempo, los valores se presentan en el cuadro 13. Este valor reveló que no existió diferencia estadística significativa (0.6899) entre tratamientos.

**Cuadro 13**

**Consumo voluntario (g) entre tratamientos en los gatos suplementados con el probiótico *Bacillus subtilis*.**

No. Animales	Media <sup>±</sup> DE*		
	Testigo	Dosis baja	Dosis alta
18	49.5 <sup>±</sup> 10.0 <sup>a</sup>	53.5 <sup>±</sup> 11.2 <sup>a</sup>	52.6 <sup>±</sup> 12.41 <sup>a</sup>

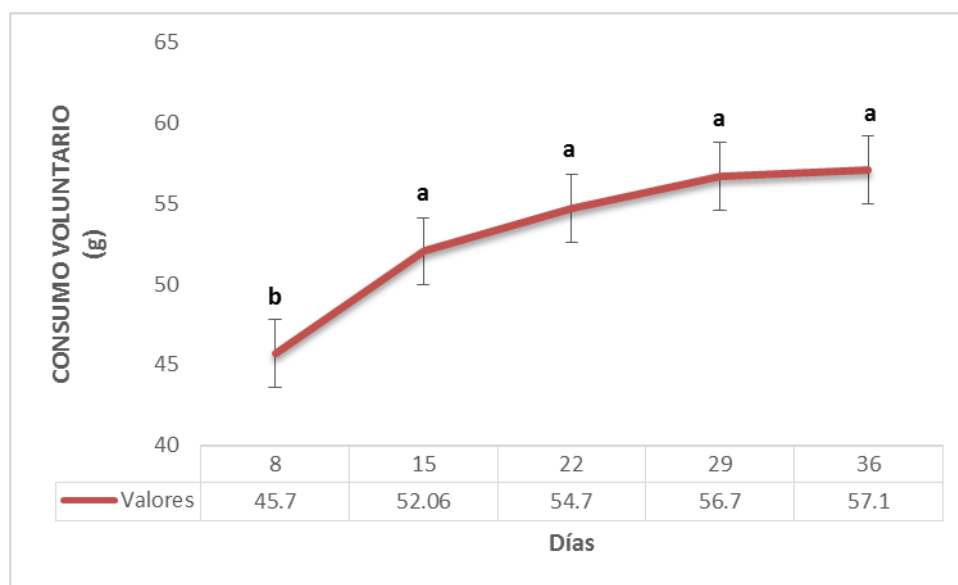
Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p <0.05).

\*Desviación Estándar.

Sin embargo, se encontró una diferencia significativa (0.0001) entre tiempos; entre el valor del día 8 y los cuatro tiempos subsecuentes (15, 22, 29 y 36 días).Figura 10. Ver anexo I.

**Figura 10**

**Consumo voluntario semanal (g) de gatos suplementados con probiótico *Bacillus subtilis*.**



Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p <0.05).

## 6.4 Ganancia de peso

Durante la suplementación del probiótico *Bacillus subtilis*, el efecto en los valores de la ganancia de peso entre tratamientos, no mostraron diferencia estadísticamente significativa (0.2241). Cuadro 14.

**Cuadro 14**

**Ganancia de peso por tratamientos (g) de gatos suplementados con *Bacillus subtilis*.**

No. Animales	Media <sup>±</sup> DE*		
	Testigo	Dosis baja	Dosis alta
18	94.90 <sup>±</sup> 53.86 <sup>a</sup>	94.97 <sup>±</sup> 62.14 <sup>a</sup>	64.90 <sup>±</sup> 61.53 <sup>a</sup>

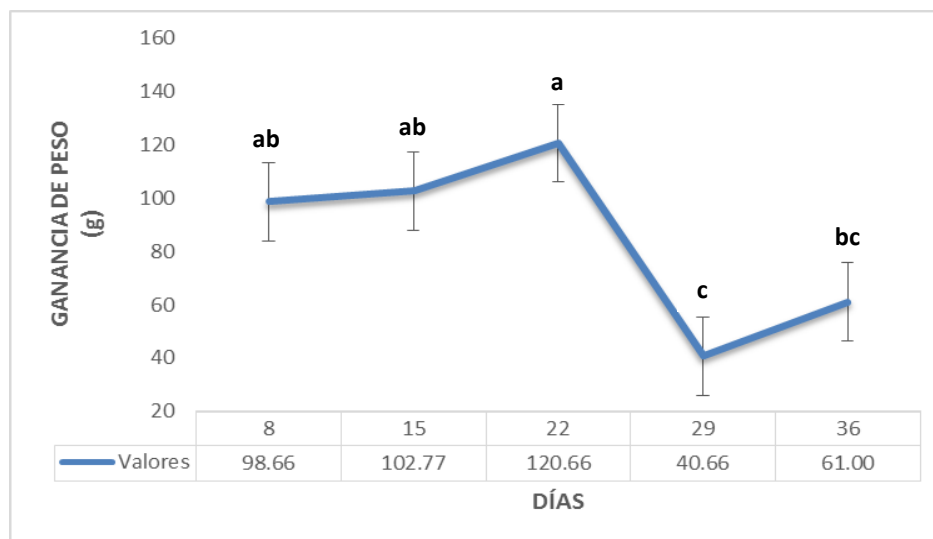
Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p <0.05).

\*Desviación Estándar.

Sin embargo, se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el peso (0.0007) al día 22 que difiere de los días 29 y 36. Además de una diferencia entre los valores al día 29 con los días 8 y 15. Figura 11. Ver anexo II.

**Figura 11**

**Ganancia de peso semanal (g) de gatos suplementados con el probiótico a base de *Bacillus subtilis*.**



Existe diferencia estadísticamente significativa si las literales son diferentes (p <0.05).

## 6.5 Conversión alimenticia

Para los valores de la conversión entre tratamientos (cuadro 15), durante la suplementación del probiótico, no se encontraron diferencias significativas (0.1165) entre tratamientos.

**Cuadro 15**

**Conversión alimenticia por tratamientos (g) en gatos suplementados con *Bacillus subtilis*.**

No. Animales	Media <sup>±</sup> DE*		
	Testigo	Dosis baja	Dosis alta
18	5.2 <sup>±</sup> 5.38 <sup>a</sup>	5.6 <sup>±</sup> 6.21 <sup>a</sup>	6.2 <sup>±</sup> 6.15 <sup>a</sup>

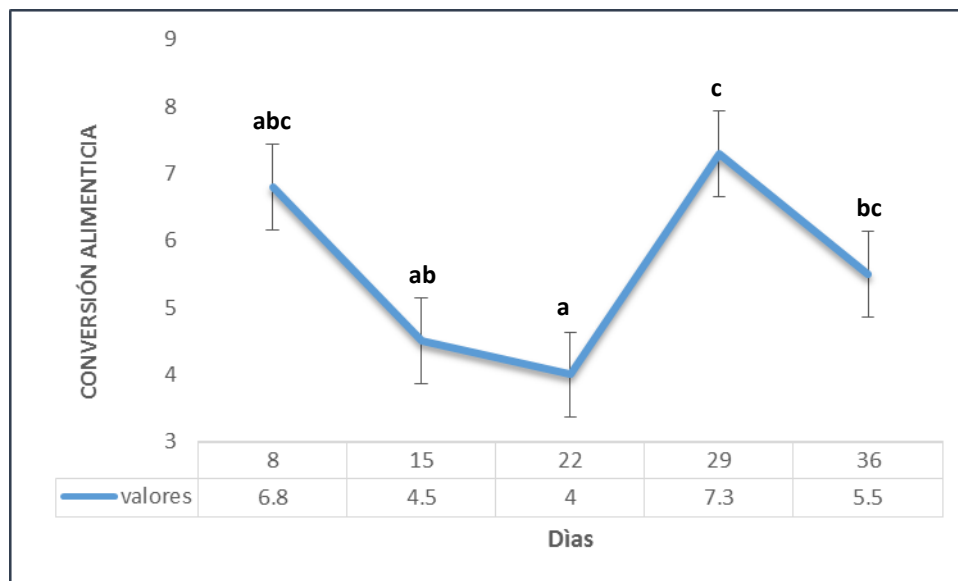
Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p <0.05).

\*Desviación Estándar.

En los valores de la conversión alimenticia entre tiempos, se encontró una diferencia estadísticamente significativa (0.0001), que corresponde a los valores del día 36 y 29 con respecto al valor del día 22. Así como, el valor del día 29 contra los valores del día 22 y 15. Figura 12. Ver anexo III.

**Figura 12**

**Conversión alimenticia (g) de gatos suplementados con el probiótico *Bacillus subtilis*.**



Existe diferencia estadísticamente significativa si las literales son diferentes (p <0.05).

## 6.6 Evaluación de la calidad de las heces.

Para el efecto del probiótico entre tratamientos en la calificación de la calidad de las heces, este reveló que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (0.0955). (Cuadro 16).

**Cuadro 16**

**Análisis de heces por tratamientos de gatos suplementados con probiótico *Bacillus subtilis*.**

<b>Tratamiento</b>	<b>No. Animales</b>	<b>Sumatoria de puntuación</b>	<b>Media de puntuación</b>
<b>Testigo</b>	6	34.00	5.66
<b>Dosis baja</b>	6	66.50	11.08
<b>Dosis alta</b>	6	70.50	11.75

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).  
Aproximación de chi cuadrada, prueba de una vía.

## CAPÍTULO 7

### DISCUSIÓN

#### 7.1 Amoniacó

En el presente estudio, se obtuvo un aumento significativo en el contenido de amoniacó sérico, encontrándose una diferencia estadística significativa con el testigo a los 21 días, esto pudo ser debido al incremento en la concentración de microorganismos a nivel colónico que promovió la degradación de la proteína no digerida, incrementando la producción de amoniacó y su difusión hacia el torrente sanguíneo. Algunos estudios refieren que la proteína de menor calidad promueve el incremento de proteína no digerida a nivel colónico; la que es utilizada por los microorganismos produciendo mayor cantidad de amoniacó. Swanson (2012) reportó que las dietas que requieren mínima digestión también reducen las secreciones gástrica, pancreática, biliar e intestinal y contribuyen en la reducción del recuento total de bacterias en el intestino; lo que ocasiona que éstas no ocupen esta proteína de escape en la producción de amoniacó. Arias (2014) en su experimento con perros y el uso de fructooligosacáridos, reportó que una dieta formulada con proteínas de alta digestibilidad y en un porcentaje moderado reduce la concentración de productos de su fermentación, tales como amoniacó, fenoles, índoles y ácidos grasos de cadena corta en las heces. Carpintero (2014) reporta la utilización en perros del suplemento probiótico *Bacillus subtilis*; un aumento en la concentración de amoniacó sanguíneo debido a, que este probiótico puede no ser eficiente al competir con bacterias ureasas positivas o en la utilización del amoniacó como fuente de nitrógeno. Braissant (2010), Bongaerts *et al.*, (2005) y Monfort *et al.*, (2002) mencionan que de forma normal la microbiota gastrointestinal produce amoniacó a partir de bacterias ureasa positivas y de la desaminación de los aminoácidos de la dieta. En el caso del grupo experimental tres (dosis alta), los niveles de amoniacó no se elevaron como en el caso del grupo dos, debido a, que de inicio se encontró una mayor concentración de microorganismos, estos aprovecharon el amoniacó para su propio metabolismo y por tanto este no difundió hacia la sangre. Portella (2010) reportó también en un estudio realizado con cachorros de la raza Beagle y utilizando dos dietas diferentes haber encontrado una disminución en las concentraciones de amoniacó, en una dieta con mayor digestibilidad y mayor cantidad de oligosacáridos fermentables. Este analito al día 21 también

presentó aumento en el contenido promedio de los 3 tratamientos (control, dosis baja, dosis alta) a los 42 días, debido a que la microbiota pudo ya haberse equilibrado.

Las medias de los animales no se mantuvieron en los rangos de referencia para gatos sanos (*Felis catus*) con valores entre 0-80  $\mu\text{mol/L}$  (Bush, 1999) estos valores estuvieron entre 102 y 203  $\mu\text{mol/L}$  con excepción del tratamiento 1 (control) en el tiempo 3 (42 días) con un rango de referencia normal de 74  $\mu\text{mol/L}$ .

## 7.2 Urea

Para este analito se encontró una disminución en la concentración de los valores en el segundo muestreo al día 21 con respecto al valor basal al día cero. Esto pudo ser ocasionado por el manejo inicial de los gatos en la toma de muestra. Al ser la primera ocasión en que iban a ser manipulados y veno-puncionados por vía yugular, sufrieron estrés (el cual, pudo detectarse de forma física, por el comportamiento presentado), lo que promovió la liberación de hormonas del estrés (cortisol, adrenalina) provocando una demanda mayor en la cantidad de energía haciendo uso de la proteína endógena para cubrir esta necesidad ya que los gatos se encuentran en gluconeogénesis constante y la desaminación de las proteínas da como resultado la formación de altas cantidades de amoníaco que a su vez aumenta la síntesis de urea para eliminar este exceso por lo cual los niveles de urea séricos se elevaron en los tres grupos, sin embargo, cabe recalcar que los rangos de referencia de las medias para gatos sanos (*Felis catus*) se encontraron dentro los valores normales entre 4.1-10.8 mmol/L (Bush, 1999) donde las medias poblacionales estuvieron entre 4.05 y 5.58 mmol/L.

Para el día 21 bajaron los niveles de este analito, debido a que para el segundo manejo en la toma de muestra sanguínea, estos ya conocían el procedimiento y no se estresaron de la misma forma que la primera vez. En el tercer muestreo, los niveles en los tres grupos alcanzaron sus niveles normales, debido a un acondicionamiento adecuado en el manejo de la obtención de sangre. Gutiérrez (2003) mencionó que el estrés puede ocasionar episodios de acidosis metabólica, es el principal contribuyente al catabolismo proteico por medio de la vía proteolítica ubiquitina-proteosoma dependiente de ATP. La acidosis, estimula el catabolismo de aminoácidos esenciales de cadena ramificada al incrementar la oxidación, acelerando el catabolismo de proteínas musculoesqueléticas (proteína endógena). La proteólisis resulta de la activación de la ubiquitina-proteosoma dependiente de ATP, asociada a acidosis metabólica, exceso de glucocorticoides y resistencia a la insulina. La acidosis metabólica y la urea *per se*, cumplen criterios de toxinas urémicas.

Ohta (2009) estudio con ratas desarrolló un estado de estrés emocional (Inmovilización, restricción o soledad) aunado a una combinación con exposición al frío e inmersión en agua, estos factores son causas de elevación enzimática y hormonal, que pueden provocar daños a tejidos uno de ellos, lesiones en la mucosa intestinal. Los productos que se aumentaron en riñón y corazón, en esta condición fueron: la alanina sérica, creatinina, urea, glucosa, cortisona, hormona adrenocorticotropa (ACTH).

En esta condición, se eleva la actividad simpática, induciendo los incrementos enzimáticos en plasma vía  $\alpha$  y  $\beta$ -adrenoreceptores, así como nervios colinérgicos que están relacionados con la inducción del estrés, incrementando en plasma nitrógeno uréico y glucosa, ya que las enzimas producidas en este proceso, inducen el estrés oxidativo en varios tejidos.

En otro estudio, en el cual se dieron probióticos a gatos con problemas renales, se observó una disminución significativa en los valores de urea y Creatinina, independientemente del Tx que seguían y el tipo de alimento. Esto debido a que en su estudio, utilizaron una mezcla probiótica (*Streptococcus termophilus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium langum*) junto con prebióticos, resultando así, la utilización de un simbiótico, dando una respuesta positiva en los valores de los analitos séricos antes mencionados

Aparentemente, los probióticos son benéficos en gatos con problemas renales, pero en animales sanos como este estudio, no modificaron los valores de amoniaco y urea por debajo del rango normal.

Debido al aumento de amoniaco en el primer día de la toma de muestra éste debe ser metabolizado en el hígado y transformado en urea a nivel renal por tal motivo al día cero se encontró un aumento en los niveles de este analito en los tres tratamientos del estudio.

A diferencia del amoniaco que se incrementó en el segundo muestreo en el grupo dos, la urea no se elevó, lo cual puede deberse a que las bacterias intestinales sintetizan ureasa, que convierte la urea en amoniaco y  $\text{CO}_2$ . El amoniaco 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. De ahí que los niveles séricos de este analito no fueran diferentes en los tres grupos a través de este estudio.

De acuerdo con Krimer (2012) la urea es un compuesto que se produce en el hígado como mecanismo para eliminar el amoniaco, se excreta principalmente por vía renal, y una baja proporción se excreta a nivel gastrointestinal, generalmente en el colon se reabsorbe de forma directa o como amoniaco. Levin, et al. (2003) dijo que la permeabilidad de la urea a nivel colónico es muy baja, pudiendo ser en conjunto, la causa por la que la concentración sérica no se modificó. Sin embargo, Hesta (2001) reportó cambios en los niveles de urea con la suplementación de inulina



al 1%, hace mención de una fermentación a nivel colónico en gatos complementados con inulina y oligofructosa, por lo que se podría aplicar el concepto de trampa de nitrógeno.

### **7.3 Consumo voluntario**

En los valores del consumo semanal, no se encontró diferencia entre los tiempos de muestreo para todos los animales. Sin embargo, sí se encontró diferencia entre tratamientos y tiempos; resultando este cambio a los ocho días de comenzado el experimento y los cuatro tiempos subsecuentes (15, 22, 29 y 36 días) donde el consumo aumentó progresivamente; lo que se esperaba en este experimento por la etapa de crecimiento en la que se encontraron los gatos.

Cupp Carolyn (2006) observó en gatos gerontes que el uso de probióticos no alteró el peso-consumo de los gatos del estudio, lo que difiere con lo encontrado en este estudio ya que de forma fisiológica y para cubrir las necesidades en el crecimiento de los tejidos, el consumo de los gatos en crecimiento aumentó. Los gatos gerontes tuvieron una vida más larga en promedio de 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.

### **7.4 Ganancia de peso y conversión alimenticia.**

Se encontró una disminución en el valor de la ganancia de peso para todos los gatos al día 29 con respecto a al valor de ganancia al día 22. Esto se debió a un cambio en el ambiente natural (época de lluvias), en el lugar donde se encontraron los gatos del estudio experimental. El agua de lluvia se filtró en el espacio físico, lo que provocó que el ambiente se tornara más frío, la lluvia generó aumento del ruido y se desarrolló la fase de estrés en los animales. Marlotti (2009) mencionó en su estudio con perros y gatos que el estrés ambiental puede ocasionar pérdida total o disminución parcial del apetito o una mala conversión alimenticia; repercutiendo en parámetros relacionados como la ganancia de peso. Estas alteraciones deben resolverse rápidamente para evitar dar una alimentación asistida.

Vázquez (2009) en su estudio con gatos, reportó que con la adición de probióticos a la dieta de los gatos en crecimiento, no tuvo efectos adversos ni benéficos en el consumo voluntario, ni en la ganancia de peso, la variable incrementó con el tiempo, siendo 20% mayor en gatos en crecimiento que en los de mantenimiento.

Vivas (2008) en su estudio reportó que gatos que fueron confinados a lugares pequeños donde se restringe su actividad provocó una modificación de sus rutinas naturales y necesariamente la localización de sus recipientes de alimentación y bebidas demasiado cerca de la caja sanitaria lo que va en contra de su comportamiento higiénico propio de la especie provocando estrés y una alteración en el consumo, ganancia y conversión alimenticia. En este estudio, los gatitos fueron confinados a jaulas individuales por requerir la observación y calificación de las heces fecales no se utilizó arena para gato, lo más probable es que los gatitos hayan sufrido episodios de estrés debido a no utilizar la arena para la deposición de sus heces alterando así su comportamiento natural. Además de que en ese periodo los cambios climatológicos resultaron en fuertes lluvias provocando estrés y cambios en el consumo, así como en la ganancia de peso a los 29 y 36 días. Estudios realizados en el 2010 han demostrado que el uso de mezclas de probióticos como promotores de crecimiento, obtienen mejores resultados que los aditivos usando un solo probiótico.

#### **7.6 Evaluación de la calidad de las heces**

En este estudio dentro de la evaluación de la calidad de las heces entre tratamientos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Bortolozo (2002) informó que dentro de los *Bacillus* más utilizados se encuentra *Bacillus subtilis*, el cual es considerado como uno de los microorganismos transitorios del aparato gastrointestinal, pues no posee la capacidad de adherirse al epitelio intestinal favoreciendo la colonización de otros microorganismos como es el caso de *Lactobacillus acidophilus*. Vázquez (2009) reportó en su estudio con gatos adultos que la administración de bacilos (*Bacillus clausii*) contribuyó significativamente a mejorar la consistencia fecal. Asimismo, de manera empírica se detectó que los gatitos en los que utilizó tratamientos con enterococos tuvieron una mayor producción de gas intestinal y las heces tenían un olor fétido.

Esto puede ser debido a que la microbiota de los gatos adultos se encuentra ya desarrollada y diferenciada; en el caso de los gatos en crecimiento existen variaciones en el número y tipos de microorganismos que la conformarán.

Portella (2010) en su estudio con perros de la raza Beagle, cachorros de siete a ocho meses de edad, adicionó a la dieta un probiótico a base de *Bacillus subtilis* (C-3102,  $1 \times 10^{10}$  UFC/g<sup>-1</sup>); reportó que el excesivo crecimiento de algunas especies bacterianas en el intestino, pueden causar desórdenes intestinales. Una de las bacterias relacionadas en la colonización de la microbiota del colon es *Clostridium perfringens*, quien metaboliza nitrógeno, compuesto que produce heces putrefactas provocadas por la producción de aminas biogénicas (aminas biológicamente activas, compuestos orgánicos de bajo peso molecular, que contienen nitrógeno, y que están presentes de

manera natural en los alimentos, ejemplos, catecolaminas e indolaminas, incluyendo acetil colina, histamina, tiamina, dopamina, serotonina, norepinefrina y epinefrina, formadas por la acción de organismos vivos) y fenoles, que provocan un olor fétido. Además, muchos de estos catabolitos influyen negativamente en la salud del paciente provocando altas concentraciones de amoniaco que perturban el recambio celular; lo que se relaciona a los 22 días del estudio, donde todos los tratamientos presentaron cuadros diarreicos y en este tiempo el aumento en los valores de amoniaco.

Bortolozo (2002) informó que dentro de los *Bacillus* más utilizados se encuentra *Bacillus subtilis*, el cual es considerado como uno de los microorganismos transitorios del aparato gastrointestinal, pues no posee la capacidad de adherirse al epitelio intestinal favoreciendo la colonización de otros microorganismos como es el caso de *Lactobacillus acidophilus*.

## CAPÍTULO 8

### 8.1 CONCLUSIONES

Se concluye que la suplementación con el probiótico *Bacillus subtilis* en dosis 1.1 g y 2.2 g al día por grupo y por gato sano en crecimiento durante los 42 días de experimentación, no tiene efecto en las concentraciones de urea y amoníaco sérico

La adición de probióticos a la dieta de gatos sanos, no tuvo efectos adversos ni benéficos en el consumo voluntario, ni en la ganancia diaria de peso. Éstas variables se incrementaron con el tiempo como se esperaba en animales en crecimiento.

La conversión alimenticia no reportó cambios significativos con la suplementación del probiótico.

Para la evaluación de la calidad de las heces, el probiótico no provocó cambios significativos en éstas.

### 8.2 RECOMENDACIONES

Se recomienda la administración del probiótico a base de *Bacillus subtilis*, junto con un prebiótico para estudiar las posibles respuestas en animales con alimentos con cantidades de proteína elevada.

Se recomienda la utilización de otro tipo de microorganismo probiótico que se encuentre más en relación con la microbiota normal de gatos sanos (*Lactobacillus*) ya que el microorganismo *Bacillus subtilis* parece no tener efecto en los parámetros medidos en este estudio.

## CAPÍTULO 9

### LITERATURA CITADA

- Adams M, Moss M. 1997. Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia. 317-328.
- Álvarez Olmos MI. 2001. Probiotics Agents and Infectious disases: a modern perspective on a traditional therapy. Clin. Inf. Dis. Vol. 32: 1567-1576.
- Angel LMA. 2013. Uso de probióticos en la nutrición de monogástricos como alternativa para mejorar el sistema de producción. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente. Especialidad en nutrición animal. CEAD. Págs; 30-70.
- Araya M, Gopal P, Lindgren S, Lodi R, Oliver G, Saxelin M. 2006. Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Estudio FAO Alimentación y Nutrición. Roma ONUAYA. 4-56.
- Arias HD. 2014. Evaluación del efecto de la suplementación de Fructooligosacáridos en perros adultos de raza pequeña y su repercusión en la concentración de amoniaco y urea séricos. FMVZ, UNAM.
- Ashwell M. 2004. Conceptos sobre los alimentos funcionales. ILSI International Life Scinces Institute. Páginas; 4-6.
- Baillon ML, Butterwick RF. 2003. The efficacy of a probiotic strain, *Lactobacillus acidophilus* DSM13241, in the recovery of cats from clinical Campylobacterm Seaion. In Proc ACVIM forum.
- Baillon MA, Marshall-Jones ZV, Butterwick RF. 2004. Effects of probiotic Lactobacillus acidophilus strain DSM13241 in healthy adult dogs, Am J Vet Res 65:338-343, 2.
- Balish E, Cleven D, Brown J. 1977. Nose, throat and fecal flora of Beagle dogs housed in locked or open enviornments, Appl Environ Micro 34:207.
- Batt R, Rutgers H, Sancak A. 1996. Enteric bacteria: friend or foe, J Small Anim Pract 37:261-267.

- Bautista BIC. 2014. Uso de *Bacillus subtilis* como probiótico y de un complejo enzimático basado en amilasas, proteasas y xilinasas en pollos de engorda, alimentados con dietas sorgo + soya. FESC UNAM.
- Bedford M. 2000. Removal of antibiotic growth promoters from poultry diets; implications and strategies to minimize subsequent problems. Poul. Sci. J. 56:346-366.
- Benyacoub J, Czarnecki-Maulden GL, Cavadini C, and others. 2003. Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune functions in young dogs, J Nutr 133:1158-1162.
- Biourge V, Groff JM. 1994. Nitrogen balance, plasma free amino acid concentrations and urinary ototic acid excretion during long term fasting in cats. J Nutr. 124:1094-1103.
- Blanco A. 2007. Química Biológica. Octava edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires.
- Blanco AJ. 2002. Prebióticos y probióticos. Una relación beneficiosa. Revista Cubana Aliment. Nutr. 16(1): 63-68.
- Boangerts G; Severijnen R; Timmerman H. 2005. Effect of antibiotics, prebiotics and probiotics in treatment for hepatic encephalopathy. Medical Hypotheses. 64: 64-68.
- Boudreau J, White T. 1978. Flavor chemistry of carnivore taste systems, In Bullard RW, editor: Flavor chemistry of animal foods, American Chemical Society symposium series 67, Washington DC, ACS, pp 102-108.
- Braissant, O. 2010. Current concepts in te pathogenesis of urea cycle disorders. Molecular Genetics and Metabolism. 100:S3-S12.
- Brosley 2000. Producción de sulfuro de hidrogeno a partir de aminoácidos sulfurados.
- Buddington RK. 2000. The use of fermentable fibers to manage the gastrointestinal tract, In Reinhart GA, editors: Recent advances in canine and feline nutritional research: lams nutrition symposium proceedings, vol 3, Wimlington, Ohio, Orange Frazer Press, pp 169-179.
- Boixeda D, Gisbert JP. 2000. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población general. Unidad de Santigao de Compostela. Pág 43-44.

- Boixeda de MI. 2012. Introducción a la Alimentación Canina y Felina. Visión del Mercado. Friskies España S.A. XVI curso de Especialización FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal).
- Bush, B.M. 1999. Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales. Ed. Harcourt. Revisión de la edición española.
- Carpintero KE. 2014. Evaluación del efecto de *Bacillus subtilis* sobre la concentración sanguínea de urea, amoníaco y la generación de especies reactivas de nitrógeno en perros adultos en mantenimiento. FMVZ, UNAM.
- Case LP, Daristotle L, Hayek MG, Foess RM. 2013. Nutrición en Caninos y Felinos; para los especialistas en animales de compañía. Tercera Edición. Buenos Aires: Inter-Médica.
- Chichlowski M, Croom J, McBride BW, Havenstein GB, Koci MD. 2007. Metabolic and physiological impact of probiotics or direct-feed microbials on poultry: A brief review of current knowledge. Int. J. Poult. Sci. 6 (10): 664-704.
- Chivers DJ, Hladik CM. 1980. Morphology of the gastrointestinal Tracts in Primates: Comparations with others Mammals in Relation with Diet. J. Morph. 166:337-386.
- Correa H, Cuéllar A. 2004. Aspectos clave del ciclo de la urea con relación al metabolismo energético y protéico en vacas lactantes. Rev Col Cienc Pec, Vol. 17:1.
- Cotto A. 2013. Digestión de proteínas y absorción de aminoácidos METABOLISMO: Degradación de los aminoácidos, catabolismo del nitrógeno. <http://slideplayer.es/slide/149360/>.
- Cummings JH, Macfarlane GT. 1997. Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. Clin Nutr 16: 3-11. 1
- Cutting SM. 2011. Bacillus probiotics. Food Microbiology. 28:214-220.
- Czarnecki-Maulden GL, Cavadini C, Mrkvicka J. 2007. Effect of *E. Faecum* SF68 on chronic, intractable diarrhea in adult cats. In Nestle-Purina petcare brochure: role of probiotics in GI tract health, pp 13-14.
- Daristotle L. 2011. Nutrición de caninos y felinos. Comunicaciones científicas, Procter y Gamble Pet Care. Lewisburg, Ohio.

- De las Cagigas AL, Blanco AJ. 2002. Prebióticos y probióticos. Una relación beneficiosa. Revista Cubana Aliment. Nutr. 16(1): 63-68.
- Diplock AT, Aggett PJ, Ashweel M, Borneo F, Fern EB, Roberfroid M. 1991. Scientific concepts of functional foods in Europe consensus documents. Br J Nutr. 81:S1
- Drackley JK, Beaulieu AD, Sunvold GD. 1998. Energetic substrates for intestinal cells. In Reinhart GA, Carey DP. Recent advances in canine and feline nutritional research, feline nutrition symposium proceedings, vol 2 Wilmington, Ohio, Orange Frazer Press, pp 462-563.
- Duerkop BA, Vaishnav S. 2009. Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. Immunity Review 31: 368-375.
- Errington J. 2003. Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. Nature Review Microbiology. 1:117-126.
- Escalante LA. 2001. El potencial de la manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana. Enf. Inf. y Microb. 21(3):106-114.
- Espinosa JJ. 2005. Caracterización del proceso de crecimiento de *Bacillus subtilis* bajo condiciones anaerobias. Tesis. UNAM. Instituto de Biotecnología. Febrero. 1-106.
- Falk PG, Hooper LV, Midtved T, Gordon JI. 1998. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. Microbiol Mol Biol Rev; 62; 1157-1170.
- Fanaro S, Chierci R. 2003. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta Paediatr suppl 441:48-55.
- Floch MH, Walker WA, Guandalini S. 2008. Recommendation for probiotic use-2008, J Clin Gastroenterol 42:5104-5108.
- Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66; 365-378.
- García-Mazcorro JF; Minamoto Y. 2013. Microorganismos gastrointestinales en gatos y perros: una revisión breve. Arch. Med. Vet. (online). Vol. 45, n. 2, pp. 111-124.
- García SM. 2012. Empleo de probióticos en los animales. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Popular de Angola. Ganadería. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)



- Garssen J, Herreilers M, Van Loveren H. 2003. Immunomodulation by probiotics: a literature survey. RIVM 340320001.
- Gerald P. Nutritional and Metabolic response to catabolic stress in uremia. *The American Journal of Clinical Nutrition* 33, July. Pp. 1411-1416.
- Guarner F, Malagelada JR. 2003. Gut flora in health and disease, *Lancet* 361:512-519.
- Gutiérrez VI, Domínguez MA, Acevedo MJJ. 2003. Fisiopatología del síndrome urémico. *Rev. Hosp. Gral. Dr. M Gea González*. Vol 6. No. 1. Enero-abril. Págs. 13-24.
- Hamer, 2008. Bacterias productoras de butirato en heces de gatos
- Hendriks WH, Moughan P. Urinary excretion of endogenous nitrogen metabolites in adult domestic cats using a protein-free diet and the regression technique. *J Nutr* 127:623-629. 1997.
- Hoa TT, Duc LH, Isticato R, Baccigalupi L, Ricca E, Van PH, Cutting SM. 2001. Fate and dissemination of *Bacillus subtilis* spores in a murine model *Appl. Environ. Microbiol.* 67(9):3819-3823.
- Hong HA, Duc LH, Cutting SM. 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Micro. Rev.* 29: 813-835.
- Hooper LV, Midtvedt T. 2002. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr* 22: 283-307.
- Hooper LV, Stappenbeck TS, Hong CV, Gordon JI. 2003. Angiotensin: A new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nature Immunology*. Vol. 4: 269-273.
- Hooper LV, Macpherson AJ. 2010. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol* 10: 159-169.
- Hozalpe W, Haberer P. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr.* (73 suppl):3655-73S.
- Jadamus A, Vahen W, Simon O. 2001. Growth behaviour of a spore forming probiotic strain in the gastrointestinal tract of broiler chicken and piglets. *Arch. Anim. Nutr.* 54:1-16.
- Johnston KL, Lamport A, Batt RM. 1993. An unexpected bacterial flora in the proximal small intestine of normal cats. *Veterinary Record*; 132; 362-363.

- Laflamme D.P., DVM, PhD, DACVN, y B. Marteniu, PhD. 2007. Como mantener la salud del intestino: el papel de la microflora intestinal. Nestlé purina: Researchreport. Vol. 2:2-7.
- Latimer KS, Mahaffey EA and Prasse KW. Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Phatology, 4<sup>th</sup> edition, Wiley-Blackwell, 2003. Valores de referencia tomados de [http://www.merckmanuals.com/vet/appendixess/reference\\_guides/serum\\_biochemical\\_referencs\\_ranges.html](http://www.merckmanuals.com/vet/appendixess/reference_guides/serum_biochemical_referencs_ranges.html). Addapted, with permission.
- Louis P, Flint HJ. 2009. Diversity metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. FEMS Microbiol Lett 294, 1-8.
- Loveridge. 1994. Comfortable Environmentally Effects Enriched Housing for Domestic Cats. Waltham Center for Pet Nutrition. [www.awionline.org/pubs/cq/cats.htm](http://www.awionline.org/pubs/cq/cats.htm).
- Macfarlane S, Macfarlane GT. 2004. Bacterial diversity in the large intestine. Adv Appl Microbiol 54:261-289.
- Magne ML. 1992. Pathophysiology of inflammatory bowel disease, Sem Vet Med Surg Small Anim 7:145-152.
- Mariotti VM, Amat M, Hervera M. 2009. Factores ambientales implicados en el control en la conducta del perro y el gato: alimentación, manejo y ejercicio. Clín Vet Peq. Anim, (29) 4: 209-215..
- Marshall-Jones ZV, Baillion MLA, Croft JM. 2006. Effects of Lactobacillus Acidophilus, DSM 13241 as a probiotic in healthy adults cats. Am J Vet Res. 67: 1005-1012.
- Mc Farland LV. 2000. Beneficial microbes. Healthorhazard EurGastroenterolHepatol. 12(10):1069-71.
- Mellanby RJ, Mee AP. 2005. Hipercalcaemia in two dogs caused by excessive dietary supplementation of vitamin D, J Small Anim Pract 46:334-338.
- Mombelli B, Gismondo MR. 2000. The use of probiotics in medical practice. Int. Antimicrob Agents 16(4):531-6.
- Monfort P, Kosenko E, Erceg S, Canales JJ, Felipe V. 2002. Molecular mechanism of acute ammonia toxicity: role of NMDA receptors. Neurochemistry International 41: 95-102.

- Monza J, Doldán S, Signorelli S. 1999. Ciclo de Krebs. Bioquímica, Mathews y Van Holde. Edit. McGrawHill, Interamericana. Pág: 17.
- Morales GL. 2014. Tinción de Schaeffer-Fulton. <https://prezi.com/gsugs6rg2utr/tincion-de-schaeffer-fulton/>.
- Morris JG, Rogers QR. 2000. Comparative dog and cat nutrition. In Burger IH, Rivers JPW, editors; Nutrition of the dog and cat, Cambridge, England. Cambridge University Press.
- Moxham Glyn. Sistema de puntuación de las heces, una herramienta para los veterinarios y los dueños de animales de compañía. ¿Cómo califica a su perro? WALTHAM Focus, 2001, Vol. 11. No. 2:24-25.
- Nagendra P. 2007. Functional cultures and health benefits. International Dairy Journal. 17(17):1262-1277.
- Ohta Y. 2009. Involvement of Oxidative Stress in Increases in the Serum Levels of Various Enzymes and Components in Rats with Water-Immersion Restraint Stress. J. Clin. Biochem. Nutr, 45, 347-354, November.
- Palmero ML. 2005. Diarrea crónica frustrante en el gato. Revisión bibliográfica. Págs. 1-12.
- Palmquist R. A Preliminary Clinical Evaluation of Kibow Biotics®, a Probiotic Agent, on Feline Azotemia. Centinela Animal Hospital, Inc. 721, Centinela Avenue, Inglewood, CA 90302, (ph) 310-673-1910.
- Papasouliotis K, Sparkes AH, Werret G, Egan K, Gruffydd-Jones EA. 1998. Assesment of the bacterial flora of the proximal part of the small intestine in healthy cats, and the effect of sample collection method. American Jorunal of Veterinary Research. PubMed. Vol. 59(1); 48-51.
- Pardio VT, Krzysatof N, Waliszewski KN, Robledo G. 1994. Los probióticos y su futuro. ArchLatinoamNutr. 4681: 6-10.
- Patterson Ja, Burkholder KM. 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poult. Sci. 82:627-631.
- Penna FJ. 1998. Diarrea y probióticos. Simposio sobre utilidad de los probióticos en el manejo de las diarreas. Rev. EferInfecPed XI. (6):182.

- Phalakornkule Z. 2005. Engineering of *Bacillus subtilis* for Enhanced Total Synthesis of Folic Acid. *Applied and Environmental Microbiology* 71(11):7122-7129.
- Portella FA, Teixeira NMV. 2010. Digestibility and fecal characteristics of dogs fed with *Bacillus subtilis* in diet. *Ciencia Rural*, Santa María, v.40, n. 10, p. 2169-2173.
- PyG. 2009. Unpublished study: Data on file at Procter and Gamble Pet Health and Nutrition Center, Lewisburg, Ohio.
- Quera PR, Quigley E. 2005. El rol de los prebióticos, probióticos y simbióticos en gastroenterología. *Gastr. Latinoam.* Vol. 16, No. 3: 218-228.
- Rami E, Guarner F, Thomson A, Khan A. 2011. Guía práctica de la Organización de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos. Official Spanish translation of the WGO. Octubre. 2-26.
- Rochus K. 2014. Dietary fibre and the importance of the gut microbiota in feline nutrition: a review. *Nutrition Research Reviews* 27, 295,307.
- Rogers QR. 2008. Some highlights in elucidating the peculiar nutritional needs of cats. *Compend Cont Educ Vet* 30 (Suppl): 9-16.
- Rogers QR, Morris JG. 2002. Up-regulation of nitrogen catabolic enzymes is not required to readily oxidize excess protein in cats. *J Nutr.* 132:2819-2820.
- Russell K, Murgatroyd PR. 2002. Net protein oxidation is adapted to dietary protein intake in domestic cats (*Felis silvestris catus*). *J Nutr.* 132:456-460.
- Sánchez MCF. 2010. Metabolismo de los aminoácidos. Cap. 1:14-456-464.
- Sanz Y, Collado MC. 2004. Funciones metabólico-nutritivas de la microbiota intestinal y su modulación a través de la dieta: probióticos y prebióticos. *Nutrición infantil. Acta pediátrica española*, Vol. 62, No.11.
- Sato R, Yamagishi H. 1993. Feline vitamin D toxicosis caused by commercially available cat food, *J Jpn Vet Med Assoc* 46:577-581.
- Schrezeinmer J and Vrese M 2001. Probiotics, Prebiotics and Symbiotics approaching a definition. *America Journal of Clinical Nutrition.* 76:361-364.

- Shudolski, J.S. 2011. Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. *Journal Animal Science*. Vol. 89(5); 1520-30.
- Simmering M. and Blaut M. 2001. Pro-and prebiotics.the tasty guardian angels?. *Applied Microbiology biotechnology*; 55:19-28.
- Simon O. 2005. Microorganisms as feed additives: probiotic efficacy and mode of action. 4. BOKU-Symposium. 10-16.
- Simpson K. 2011. El microbioma Gastrointestinal Canino en estados de salud y enfermedad. *Royal Canin. Veterinary focus*. Vol. 23. No. 2. Pág. 22-28.
- Smeets P, Watson T. 1998. A review of the physiology of the canine digestive tract related to the development of in vitro systems. *Nutr. Res. Rev.* 11:45-64.
- Stappenbeck TS, Hooper LV. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 15451-15455.
- Stecher B, Hardt WD. 2001. Mechanisms controlling pathogen colonization of the gut. *Curr Opin Microbiol* 14: 82-91.
- Swanson KS. 2013. The gut microbiome of kittens is affected by dietary protein: carbohydrate ratio and associated with blood metabolite and hormone concentrations. *British Journal of Nutrition*. Volumen 109. Edición 9. Mayo. Pp 1637-1646.
- Teitelbaum JE, Walker WA. 2002. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Annual of Review Nutrition*. Vol. 22:107-138
- Tellez G, Higgings SE, Donoghue AM, Hargis B. 2006. Digestive physiology and the role of microorganisms. *J. Appl. Poult. Res.* 15: 136-144.
- Tiwedt DC. 1993. Clostridium perfringens associated diarrhea in dogs. In *proc 11<sup>th</sup> Ann Conf Vet Intern Med Forum*, pp 121-125.
- Torres R. 1999. Flora Intestinal, probióticos y salud. Guadalajara. Edit Gráfica Nueva, Yakult.
- Tun. Microbiota intestinal.

- Tungland BC, Meyer D. 2002. Nondigestible oligo and polysacharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. *Comprehensive Reviews in Food Scince and Food Safety* 1: 73-92.
- Valentina M. 2009. Eliminación inadecuada en gatos. Facultad de Veterinaria de la UAB. España.
- Vivas AKA, Vargas QRS 2008. Evaluación de la relación que tiene el estrés en los gatos indoor frente a la presentación de la cistitis Intersticial felina. Bogotá DC.
- Vázquez VSA. 2009. Tesis: Uso de probióticos en gatos en crecimiento: su efecto en algunas variables alimenticias, inmunológicas y fisiológicas. Págs: 3-16.
- Weese JS, Anderson RE 2002. Preliminary Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG, a potential probiotic in dogs, *Can Vet J* 43:771-774.
- Westermarck E, Skrzypczak T, Harmonien J. 2005. Tylosin-responsive chronic diarrhea in dogs, *J Vet Intern Med* 19:177-186.
- Williams DA. 1996. Malabsorption, small intestinal bacterial overgrowth, and protein-losing enteropathy. In Guilford WG, Center SA, Strombeck DR, and others, editors: *Small animal gastroenterology*, edition 3, Philadelphia, Saunders.
- Younes, H. Demigné, C. Stephen, R. Garleb, KA, Christian, R. 1997. A blend of dietary fibers increases urea disposal in the large intestine and lowers urinary nitrogen excretion in rats fed a low protein diet. *Nutr Biochem*. pp. 474-480.

## CAPÍTULO 10

### ANEXOS

#### I. Consumo voluntario semanal (g) de gatos suplementados con probiótico *Bacillus subtilis*.

Días	No. de animales	Media±D.E.* (g)
8	18	45.7±7.42 <sup>b</sup>
15	18	52.1±10.0 <sup>a</sup>
22	18	54.7± 9.9 <sup>a</sup>
29	18	56.7± 9.6 <sup>a</sup>
36	18	57.1±14.1 <sup>a</sup>

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p <0.05).

\*Desviación Estándar.

#### II. Ganancia de peso semanal (g) de gatos suplementados con el probiótico a base de *Bacillus subtilis*.

Días	No. de animales	Media±D.E.* (g)
8	18	98.67±63.81 <sup>ab</sup>
15	18	102.78±60.51 <sup>ab</sup>
22	18	120.67±53.27 <sup>a</sup>
29	18	40.67±43.53 <sup>c</sup>
36	18	61.00±44.75 <sup>bc</sup>

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p <0.05).

\*Desviación Estándar.

#### III. Conversión alimenticia (g) de gatos suplementados con el probiótico *Bacillus subtilis*.

Días	No. de animales	Media±D.E.* (g)
8	18	6.81±8.20 <sup>abc</sup>
15	18	4.53±7.9 <sup>ab</sup>
22	18	4.00±2.62 <sup>a</sup>
29	18	7.3±12.8 <sup>c</sup>
36	18	5.5±7.6 <sup>bc</sup>

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p <0.05).

\*Desviación Estándar.