

# Estudio del efecto de un probiótico comercial en el crecimiento y parámetros hematológicos de hámster dorado (*Mesocricetus auratus*)

Study of the effect of a commercial probiotic on growth and blood patterns in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*)

Carmen C. Alvarado R<sup>1</sup>., Marié L. Cuervo S<sup>1</sup>. y Anacelmira J. Urbina A<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Bioterio de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad de Los Andes. carmenu@ula.ve, marie@ula.ve, anacelmira@ula.ve

**Fecha de Inicio de la investigación:** octubre 2014

**Fecha de terminación de la investigación:** diciembre 2014

## RESUMEN

Los probióticos son microorganismos beneficiosos para la salud. La producción de animales de investigación saludables y estandarizados es el principal objetivo de un bioterio de producción, por ello, los probióticos pudieran utilizarse como promotores de la salud animal. En este trabajo se determinará el posible efecto beneficioso sobre el crecimiento y parámetros hematológicos de un probiótico comercial en hamsters (*Mesocricetus auratus*). Se utilizaron 20 hamsters dorados (*M. auratus*) recién destetados, 10 hembras y 10 machos, distribuidos en 4 grupos de 5 animales, 2 grupos tratados con un probiótico comercial y 2 grupos sin tratamiento; separados por sexo y mantenidos en condiciones ambientales estandarizadas durante 3 semanas, administrándoles el tratamiento ad libitum en el agua de bebida. Los animales fueron pesados y sacrificados; obteniéndose una muestra de sangre por punción cardíaca para determinar el hematocrito, cuenta leucocitaria y contaje diferencial, adicionalmente, se disecó el estómago, hígado, intestino delgado y ciego para determinar su peso. Los resultados fueron evaluados con la prueba de U de Mann-Whitney con un nivel de significancia de 0,05 encontrándose diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de neutrófilos de los animales machos. Se concluye que el probiótico comercial estudiado no afectó el peso de los animales, solo aumentó el porcentaje de neutrófilos de *Mesocricetus auratus* machos, y además, los resultados obtenidos apoyan la necesidad de continuar realizando estudios principalmente enfocados a la búsqueda y evaluación de potencial probiótico de estos microorganismos beneficiosos para ser aplicados como promotores de crecimiento de animales de laboratorio y en animales de granja.

**Palabras clave:** Probióticos, crecimiento, parámetros hematológicos, *Mesocricetus auratus*

#### ABSTRACT.

Probiotics are microorganisms that provide health benefits. The breeding of healthy and standardized research animals is the prime objective of a production biotery, thus, probiotics could be used as promoters of the animal's health. The following research will determine the possible beneficial effects of a commercial probiotic on the growth and hematological parameters of the hamsters (*Mesocricetus auratus*)s. To that end, 20 newly weaned golden hamsters (*M. auratus*) were used, 10 males and 10 females distributed among 4 groups of 5 animals each, 2 groups were treated with the commercial probiotic and the other 2 were left untreated; divided by gender and kept on standardized environmental conditions during a 3 week span, while the treatment was being administered ad libitum via drinkable water. The animals were weighted and euthanized; blood samples were taken viacardiocentesis to determine the hematocrit, leukocyte count and differential counting, additionally, the stomach, liver, small intestine and cecum were dissected to determine their weight. The results were evaluated through the Mann-Whitney's U test with a significance level of 0,05. It was found a statistically significant difference in the percent of neutrophils in male animals between the control and the study group. Therefore, we conclude that the use of the studied commercial probiotic did not affect the weight of the animals, only has an effect in the percent of neutrophils of male *Mesocricetus auratus*, and additionally, these findings support the need for continued studies mainly focused search and evaluation of probiotic potential of these beneficial microorganisms to be applied as growth promoters in laboratory animals and farm animals.

**Keywords:** Probiotics, growth; hematological patterns, *Mesocricetus auratus*

#### INTRODUCCIÓN

En el campo de la nutrición animal los antibióticos se utilizaron como fármacos y también como promotores de crecimiento, debido a que estos ayudaban en el control de la flora bacteriana patógena, generando un mayor aprovechamiento de los nutrientes del pienso, obteniéndose una mayor ganancia de peso, sin embargo, el uso inadecuado conllevaba a la aparición de microbiota resistente a esos antibióticos y a la aparición de sus residuos en los alimentos derivados de estos animales de granja (Ávila et al, 2010); por esta razón, a raíz de la prohibición del uso de antibióticos, hay un aumento de las investigaciones destinadas a obtener nuevos aditivos promotores del crecimiento (Lara y Cardona, 2013; Ayala et al., 2008). Los probióticos son microorganismos vivos, principalmente bacterias, no patógenas, utilizados en forma de suplemento alimenticio, que tras ser ingeridos en cantidades suficientes, mejoran el equilibrio microbiano intestinal y provocan efectos benéficos sobre la salud (FAO/OMS, 2002). Los efectos beneficiosos más estudiados se relacionan con control de diarreas agudas, efectos inmunomoduladores, alergias, síndrome de enfermedad inflamatoria intestinal,

estreñimiento, síndrome de colon irritable, intolerancia a la lactosa y metabolismo lipídico (Rodríguez et al., 2013, Sarmiento, 2006; Amores y col, 2004). Debido al efecto beneficioso de estos microorganismos han ganado un importante terreno de aplicación en la cría de animales de granja, utilizándose como promotores de crecimiento y bienestar general; en la actualidad existen probióticos comerciales para ganado vacuno, cerdos, ovejas y caballos con efectos beneficiosos comprobados ( Reyes et al, 2015; Delgado et al., 2014; Lara y Cardona, 2013; Bazay, 2010; Galina et al., 2008), por esta razón, será de mucha utilidad si se pudieran utilizar también en la producción de animales de laboratorio. La producción de animales para la investigación saludables y estandarizados que garanticen la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados es el principal objetivo de un bioterio de producción, por lo tanto, los probióticos pudieran constituir una alternativa viable para obtener animales saludables en una menor cantidad de tiempo. En esta investigación se evaluará el posible efecto de un probiótico comercial sobre el crecimiento de hámster (*Mesocricetus auratus*); reflejado en el aumento de peso corporal y de los órganos, y en parámetros hematológicos como indicadores generales de la salud del animal.

#### METODOLOGÍA

Este estudio se realizó en el Bioterio de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. Se utilizaron 20 hamsters dorados (*M.auratus*) recién destetados, 10 machos y 10 hembras; distribuidos en 4 grupos de la siguiente manera: El Grupo 1 (G1); Tratamiento- machos, constituido por 5 animales a los que se les administró un probiótico comercial, el Grupo 2 (G2); Control-machos; formado por 5 hámsters machos a los que no se les administró tratamiento, Grupo 3 (G3); Tratamiento-hembras, 5 animales hembras a las que se les administró el probiótico comercial y Grupo 4 (G4); Control-hembras, formado por 5 hámsters hembras que no fueron tratadas.

Los animales fueron alojados en cajas con dimensiones aproximadas de 42 x 25 x13 cm, de polipropileno, bajo condiciones ambientales de temperatura 22 +/- 3 °C, iluminación controlada (12 horas luz y 12 horas oscuridad) y humedad relativa promedio de 75%. Durante toda la experiencia se les suministró ratarina comercial pasteurizada y agua estéril ad libitum; a los grupos 1 y 3 (G1 y G3) se les suplementó el agua con un probiótico comercial liofilizado. Según las especificaciones del fabricante 1,5 g del producto contiene de 108 a 109 Unidades Formadoras de Colonias de *Lactobacillus rhamnosus*.

El agua suplementada se preparó agregando 1,5 g del liofilizado en un bebedero con 500 mL de agua estéril y se agitó suavemente para que se disolviera. A los grupos 2 y 4 (G2 y G4) se les suministró agua estéril en bebederos con capacidad de 500ml. El cambio de agua suplementada con probióticos se realizó dos veces a la semana.

Al finalizar los 15 días de administración del tratamiento, se pesaron los animales en una balanza marca ACCULAB®VI y se aplicó eutanasia con sobredosis de anestesia inhalatoria; utilizando halotano y siguiendo las normas éticas en el manejo de animales de laboratorio (MPPCTII, 2008), a continuación, se hizo la colección de sangre por punción cardiaca en un microtubo plástico con EDTA

comercial, y además se removieron estómago, hígado, bazo, intestino delgado y ciego de la cavidad abdominal, se evaluó su condición por observación macroscópica y se pesaron en una balanza analítica marca AND HR-200.

Las pruebas hematológicas se realizaron con el método manual. El hematocrito se realizó en tubos capilares para 20  $\mu$ L de sangre utilizando una microcentrifuga marca CritsPin™. El conteo leucocitario se realizó en una cámara de Neubauer y el conteo diferencial de los glóbulos blancos se realizó en un frotis teñido con Giemsa (Lynch et al., 1977).

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante la prueba U de Mann-Whitney con un nivel de significancia de 0,05 (Tomás-Sábado, 2009).

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

El uso de los probióticos en la alimentación de animales de granja se basa en las propiedades que se les atribuye para mejorar la eficiencia de conversión alimenticia y como promotores del crecimiento (Rosmini et al., 2004). El grafico1 muestra la ganancia de peso de los animales después de administrar el probiótico por 15 días; las diferencias de pesos entre los machos (G1 y G2) y hembras (G3 y G4) entran en el rango normal para la especie estudiada. En el caso de los machos hay una diferencia de 3 gramos entre el grupo control y los tratados y las hembras control ganaron solo 2 gramos más que las tratadas. El valor de p obtenido al aplicar la prueba de U de Mann-Whitney a los pesos de los animales machos y hembras (Tabla 1) muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas; por lo tanto el probiótico evaluado no promovió, ni retrasó el crecimiento de los animales estudiados. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Arias (2010) en un trabajo realizado con esta misma especie, en donde se suministraron cepas de probióticos comerciales de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus bifidus* en el agua de bebida, encontrándose aumento de peso en los animales. El resultado obtenido en esta investigación pudiera explicarse porque el probiótico evaluado en este trabajo es diferente; y las propiedades beneficiosas difieren entre cepas incluso de la misma especie; por esa razón, la Organización Mundial de la Salud recomienda que cuando se caractericen microorganismos para futuro uso probiótico, se identifiquen a nivel de cepa (FAO/OMS, 2002).

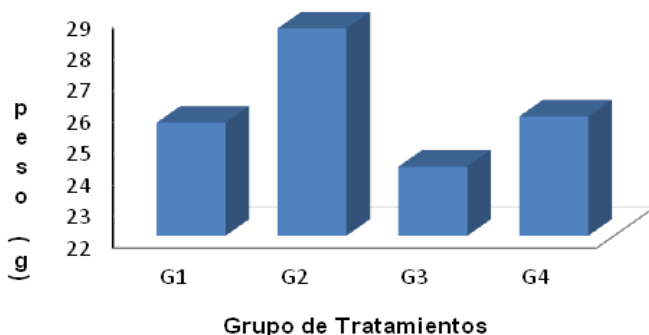


Grafico 1. Ganancia de peso corporal de Hámsters

**Tabla 1.** Peso de órganos de los hámsters

Grupos	Peso (g)*			
	Estómago	Hígado	Int. Delgado	Ciego
<b>G1</b>	1,692*	3,859	2,071	2,497
<b>G2</b>	2,590	4,965	2,497	2,253
<b>G3</b>	2,365	4,044	2,482	3,321
<b>G4</b>	3,071	4,368	2,384	2,465

\*Los resultados son el promedio de 5 animales

**Tabla 2.** Análisis estadístico de peso corporal y de órganos de los animales

Grupos comparados	Variable estudiada	Valor de p
<b>Hámsters machos (G1 vs G2)</b>	Peso corporal	0,416
	Estomago	0,337
	Bazo	0,248
	Hígado	0,184
	Intestino del.	0,382
	Ciego	0,424
<b>Hámsters hembras (G3 vs G4)</b>	Peso corporal	0,149
	Estomago	0,235
	Bazo	0,440
	Hígado	0,456
	Intestino del.	0,382
	Ciego	0,440

\*Los valores de  $p > 0,05$  indican diferencias estadísticas significativas entre los grupos tratamiento y control

Adicionalmente, aunque sabemos que este microorganismo es un habitante común de la microbiota de muchos mamíferos; incluyendo roedores y animales de granja (Rodríguez y Henríquez, 2011); es posible que no tenga los mismos efectos beneficiosos en estos animales; porque la especificidad de la especie es un factor importante que interfiere en la colonización y en la adhesión in vivo de estos microorganismos, que es una de las principales condiciones para que produzcan los beneficios en el huésped, esto sugiere que las cepas bacterianas aisladas de la microbiota indígena de una determinada especie no colonizan necesariamente el mismo sitio de otra especie animal (Ávila et al., 2010); por ello, se justifica la importancia de realizar investigaciones dirigidas hacia el aislamiento y selección de probióticos en el mismo nicho ecológico en el cual se aplicaran; si se requieren como promotores de crecimiento o suplementos nutricionales de los animales de laboratorio o de animales de granja; lo ideal es que se aislen de estos mismos animales sanos (Rosmini et al, 2004).

**Tabla 3.** Hematología de los animales

Grupo	Hematocrito	Cuenta Leucocitaria	Neu**/Linf/Eosi/Bas/Mo
	(%)*	(10 <sup>2</sup> xmm <sup>3</sup> )*	(%)*
G1	43,4	8,8	33,7/65,2/1/0,6/0,4
G2	41,6	7,0	11,4/87/1/0/0
G3	44,2	7,2	20,4/78,2/1,2/0/0
G4	46,4	6,8	21,8/77,6/0,4/0/0,25

\* Los resultados son el promedio de 5 animales \*\*Neu: Neútrófilos, Linf: Linfocitos, Eosi:Eosinófilos, Bas: Basófilos y Mo: Monocitos

**Tabla 4.** Análisis estadístico de los parámetros hematológicos de los há

Grupos comparados	Variable estudiada	Valor de p
<b>Hámsters machos (G1 vs G2)</b>	Contaje leucocitario	0,460
	Hematocrito	0,072
	% de Linfocitos	0,058
	% de Neutrófilos	0,030
	% de Eosinófilos	0,460
	% de Basófilos	0,072
	% de Monocitos	0,173
<b>Hámsters Hembras (G3 vs G4)</b>	Contaje leucocitario	0,500
	Hematocrito	0,500
	% de Linfocitos	0,378
	% de Neutrófilos	0,337
	% de Eosinófilos	0,835
	% de Basófilos	0,104
	% de Monocitos	0,460

\*Los valores de p > a 0,05 m indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratamiento y control.

El efecto primario de las bacterias probióticas consiste en implantarse en el tracto digestivo; principalmente en el intestino delgado; y desde allí ejercen sus efectos beneficiosos al huésped (De las Cagigas y Blanco, 2002). En esta investigación se evaluó el peso de órganos del tracto digestivo como estómago, hígado, intestino delgado y ciego (ver Tabla 1) para determinar si el consumo del probiótico comercial producía algún cambio en el peso de estos órganos; principalmente en el intestino delgado debido al aumento de la superficie de absorción. En un estudio realizado por Ayala et al (2008) se reportó un aumento en el peso del intestino delgado de cerdos jóvenes a los que les suministró un

probiótico comercial.

En este trabajo de investigación, las mayores diferencias se observaron los promedios de los pesos de los estómagos; sin embargo, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas en los pesos de los órganos de los animales tratados (G1 y G3) con respecto a sus controles (ver Tabla 2). Los indicadores hematológicos constituyen un examen paraclínico que permite conocer la relación entre los desórdenes en la salud y las deficiencias nutricionales. Por lo tanto, son expresión del bienestar de los animales (Delgado et al, 2014)

Los valores hemáticos de los animales estudiados y reportados en la tabla 3 entran los rangos normales para esta especie de experimentación (Zuñiga et al., 2008); y son similares a los encontrados por De Jesús y Quintero (2008) y Cova et al. (2011) en investigaciones realizadas con hámster dorados provenientes también de la colonia mantenida en Bioterio de la Universidad de Los Andes

En algunas investigaciones se ha encontrado aumento de parámetros hematológicos cuando se administran probióticos a animales de granja (Delgado et al., 2014; Fernández et al., 2014; Ayala et al., 2008). Los resultados mostrados en la Tabla 4 indican diferencias significativas en el porcentaje de neutrófilos del hámster macho, sin aumento en la cuenta leucocitaria indicativo de leucocitosis (ver Tabla 3), por ello, pudiera tratarse de estimulación de la inmunidad innata, que es la barrera primaria frente a los agentes infecciosos.

Uno de los beneficios que los probióticos ofrecen a su huésped es la modulación de sistema inmune, esto constituye una gran ventaja en la prevención de las enfermedades, por ejemplo, en ratones, las bacterias lácticas probióticas introducidas por vía oral, aumentan la respuesta inmune sistémica (Kirian et al., 2002). En esta investigación solo se evaluaron parámetros hematológicos, pero es necesario caracterizar la respuesta inmune producida en el huésped, con el fin de determinar de manera más precisa los efectos inmunomoduladores.

## **CONCLUSION**

El consumo del probiótico comercial no afectó el crecimiento de los animales; pero si se observó un efecto en el porcentaje de neutrófilos en hámster machos; con el fin de determinar claramente el efecto de este probiótico, es necesario realizar investigaciones dirigidas hacia la caracterización de la respuesta inmune producida en los animales.

Este estudio sirvió para realizar una evaluación preliminar del efecto de un probiótico como promotor de crecimiento en animales de laboratorio; los resultados obtenidos apoyan la necesidad de continuar realizando estudios principalmente enfocados la búsqueda y evaluación de potencial probiótico de estos microorganismos beneficiosos para ser aplicados como promotores de crecimiento de animales de laboratorio y en animales de granja. Debido a la especificidad de especie de muchos organismos probióticos, lo ideal es que se obtengan del mismo nicho ecológico en el cual se aplicaran y de animales sanos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Amores, R., Calvo, A., Maestre, J. y Martínez-Hernández., D. (2004). Probiótico. Revista Española de Quimioterapia. 17: 131-139.
- Arias, A. (2010). Efecto del *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus bifidus* como probiótico comercial en la dieta del hámster dorado (*Mesocricetus auratus*). Revista Sistemas de Producción Agroecológicos. 1(1): 47-62.
- Ayala, L., Bocourt, L., Martínez, M., Castro, M., y Hernández, L. (2008). Respuesta productiva, hematológica y morfométrica de un probiótico comercial en cerdos jóvenes, 42(2): 181-184.
- Ávila, J., Ávila, M., Tovar, B., Brizuela, M., Perazzo, Y. y Hernández, H. (2010). Capacidad probiótica de cepas del género *Lactobacillus* extraídas del tracto intestinal de animales de granja. Rev. Cient. (Maracaibo). 20(2): 161-170.
- Bazay, G., (2010). Uso de los probióticos en la alimentación animal con énfasis en *sacharomyces cerevisiae*. Artículo de revisión. Sistema de Revisiones en investigación veterinaria de San Marcos. España. Universidad Nacional Mayor de San Marcos- Facultad de Medicina Veterinaria.
- Cova, L., García, D., Briceño, S., Scorza, J. V., Montilla, F., Medina, M., et al. (2011). Parámetros hematológicos y bioquímicos en el hámster dorado (*Mesocricetus auratus* L.) alimentado con base en harina de lombriz roja (*Eisenia spp.*) y fuentes convencionales. Avances en Investigación Agropecuaria. 15(1): 9-29
- De las Cagigas, A., y Blanco, J. (2002). Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. Revista Cubana AlimentNutr. 6(1): 63-8.
- Delgado, R., Rodríguez, H., Barreto, G., y Vázquez, R. (2014). Efecto probiótico de *Saccharomyces cerevisiae* en parámetros hemáticos y metabólicos de terneros en pastoreo. Revista de Producción animal. 26 (3). Extraído de la red 19 de marzo 2015. <http://www.reduce.edu.cu/147/14/3/147140303.pdf>
- De Jesús R, Quintero Z. (2008). Comparación del crecimiento, parámetros reproductivos y de hematología y glicemia en hámsters (*Mesocricetus auratus*) alojados a diferentes niveles de intensidad de luz. Zootecnia Tropical, 26 (1):19-26.
- Fernández, H., Morales, M., Amela, M., Salerno, C., Rodríguez, H., F. Arenaz, F., et al. 2014. Efectos de la adición de probiótico (*Bacillus subtilis*) y omega 3 (*Salvia hispanica* L.) sobre los parámetros sanguíneos en pollos parrilleros. Rev. Agron. Noroeste Argent. (2014) 34 (2): 113-116
- Food and Agriculture Organization/ Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS). (2002). Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales



- y directrices para la evaluación. Informe del Grupo de Trabajo Conjunto FAO/OMS sobre Borrador de Directrices para la Evaluación de los Probióticos en los Alimentos. Londres, Ontario, Canadá, 30 de abril-1 de mayo de 2002.
- Galina, M., Ortiz-Rubio, M., Guerrero, M.; Mondragón, D., Franco, N., J. y Elías, A. (2008). Efecto de un ensilado de maíz solo o inoculado con un probiótico láctico y adicionado con un suplemento nitrogenado de lento consumo en ovinos. *Avances en Investigación agropecuaria*. 12(2): 23-34.
- Kirian, M., Costamagna, A., Fuentes, M., Giuni, M., Theiler, E., Reus, V. et al. (2002). Modificaciones morfológicas en las expresiones del tejido linforeticular asociado a intestini (galt) en ratones tratados con leche fermentada bio. *Revista FABICIB*. 6: 97-103.
- Lara, C., Cardona, J., impacto de un biopreparado con características probióticas sobre la producción de leche bovina en córdoba-colombia. (2013). *Rev. Bio. Agro*. 11(1). Extraído de la red el 1 de febrero 2015. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692).
- Lynch, M., Raphael, L., Spare, P., y Inwood, M. (1977). *Métodos de laboratorio*. (2da Ed.). (Vol. 1). México: Nueva editorial Interamericana.
- Ministerio del poder popular para ciencia, tecnología e Industrias intermedias (MPPCTII). (2008). *Código de bioética y bioseguridad*. 3era Edición. Caracas-Venezuela: MPPCTII.
- Reyes, J., Hurtado, E., Rey, S., Alfonso, F. y Noda, A. (2015). Evaluación preliminar del probiótico Sorbial, como aditivo para cabras lecheras en pastoreo de gramíneas. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 49 (1): 11-15.
- Rodríguez, J., Sobrino, O., Marcos, A., Collado, M., Perez-Martinez, G., Martinez-Cuesta, M., et al. (2013). Existe una relación entre la microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal? *Nutrición Hospitalaria*, 28 (sup. I): 3-12.
- Rodríguez, O., Enrique, J., (2011). Aislamiento e identificación de microorganismos con presuntivo potencial probiótico a partir de heces de animales de producción industrial. Tesis de Grado. Facultad Ciencias, Universidad Pontificia Javeriana, Colombia. Extraído de la red el 1 de abril 2015.: <http://hdl.handle.net/10554/8819>.
- Rosmini, M., Sequeira, G., Guerrero-Legarreta, I., Martí, L., Dalla-Santina, R., Frizzo, L., et al. (2004). Producción de probióticos para animales de abasto: importancia del uso de la microbiota intestinal indígena. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 3: 181-191

- Sarmiento, R., (2006). Alimentos funcionales, una nueva alternativa de alimentación. Revista Orinoquia. 10(1): 16-23.
- Tomás-Sábado, J. (2009). Pruebas no paramétricas. Escola Universitària d'Infermeria i d' Fisioteràpia "Gibernat". Escola d'Infermeria (Ed.), Fundamentos de biestadística y análisis de datos para enfermería (97-104). España: Servei de publicacions Universitat Autònoma de Barcelona.
- Zuñiga, J.; Orellana J., y Tur J. Ciencia y Tecnología del animal de laboratorio. (2008). España: Universidad de Alcalá, Sociedad española para la ciencia del animal de laboratorio.