

EDICIÓN 2017

LIBRO DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS EN SALUD



LIBRO DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS EN SALUD

EDICIÓN 2017

FACULTAD DE MEDICINA - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE

Mariano Moreno 1240

+54 379 442 2290 / 442 3155

info@med.unne.edu.ar

med.unne.edu.ar



AJUSTES PRELIMINARES EN LA FORMULACIÓN DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA MURINOS DE LABORATORIO.

Colussi, Narella A; Romero Vidomlansky, Patricia R; Gorban De Lapertosa, Silvia B; Aguirre, María V.

RESUMEN

El ratón de laboratorio es el modelo más utilizado en investigación experimental moderna, su óptimo estado nutricional permite el desarrollo del máximo potencial, así la alimentación ejerce un rol esencial en los resultados de la investigación *in vivo*.

El objetivo de este trabajo fue ajustar nutricionalmente la formulación de alimentos balanceados destinados a ratones adultos Balb-c del Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Nordeste.

Se utilizaron ratones machos de 2 meses de vida distribuidos al azar en cuatro lotes de 4 animales, alojados en cajas provistas de agua y alimento *ad-libitum*.

Los alimentos fueron diseñados en base a los requerimientos nutricionales de los animales y elaborados artesanalmente con la mezcla en seco de ingredientes naturales autóctonos y el posterior agregado de agua, fueron moldeados manualmente en forma de pellets que se secaron en estufa a 110°C durante 40 minutos. Se elaboraron tres dietas: B (con proteínas de leche), C (con proteínas de carne) y D (con proteínas de huevo), fueron asignadas aleatoriamente a los grupos experimentales y el grupo control recibió balanceado comercial (dieta A). El monitoreo de los animales y del consumo se realizó semanalmente por pesaje durante 1 mes y medio.

Se observó un mayor consumo de la dieta B respecto a C y D, los animales alimentados en base a proteínas de leche mantuvieron su peso y aspecto físico en rangos de normalidad. Se hace necesario realizar un control de calidad de la dieta B cuyo consumo ha demostrado resultados positivos.

Palabras Claves:

nutrición; ratón; biotecnología; dieta

ABSTRACT

The laboratory mouse is the most used model in modern experimental research, it's optimal nutritional status allows the development of the maximum potential, thus feeding plays an essential role in the results of *in vivo* research.

The objective of this work was to adjust nutritionally the formulation of balanced foods destined to adult mice Balb-c of the Bioterium of the Faculty of Medicine of the National University of the Northeast.

Male mice of 2 months of life were randomly distributed in four batches of 4 animals, housed in boxes provided with water and food *ad-libitum*.

The food was designed based on the nutritional requirements of the animals and was elaborated in a traditional way with the dry mix of native natural ingredients and the subsequent addition of water, they were manually molded in the form of pellets that were dried in an oven at 110 ° C for 40 minutes. Three diets were elaborated: B (with milk proteins), C (with meat proteins) and D (with egg proteins), were assigned randomly to the experimental groups and the control group received commercial balanced (diet A). The monitoring of the animals and the consumption was carried out weekly by weighing for 1 and a half months.

We observed a greater consumption of diet B compared to C and D, animals fed on milk proteins maintained their weight and physical appearance in normal ranges. It is necessary to perform a quality control of diet B whose consumption has shown positive results.

Keywords:

Nutrition; mice; biotechnology; diet

INTRODUCCIÓN

El ratón de laboratorio es reconocido como el modelo preeminente en la investigación moderna, es apreciado por muchas cualidades incluyendo su pequeño tamaño, corto tiempo de generación y fácil reproducción en bioterio. Por estar genéticamente ampliamente caracterizado, su valor en la investigación experimental se encuentra en constante aumento en todos los campos de estudio, principalmente por permitir una mayor posibilidad de extrapolación de los resultados obtenidos al ser humano y otras especies.

El adecuado estado nutricional del animal de laboratorio está directamente relacionado con la alimentación que recibe, esta le permite alcanzar su máximo potencial de crecimiento, reproducción y expectativa de vida. Asimismo, una nutrición equilibrada favorece respuestas eficientes frente a factores de estrés ambiental y disminuye el sesgo involuntario en los resultados a causa de una inadecuada composición nutricional de los ingredientes de la dieta en términos de calidad y cantidad.

De este modo, la información obtenida permite arribar a conclusiones más exactas fomentando el cumplimiento del principio ético de las tres R's en el manejo de animales de laboratorio, principalmente de la reducción del número de murinos empleados en la experiencia, además de la optimización del tiempo y los recursos de investigación. (1)

La utilización de ingredientes alimentarios regionales como las semillas de chía de alto valor nutritivo y ricas en ácidos grasos esenciales poliinsaturados Omega-3 y Omega-6 representan una alternativa innovadora para la producción de alimentos destinados a murinos de laboratorio. (2, 3).

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo fue ajustar nutricionalmente la formulación de alimentos balanceados destinados a ratones adultos Balb-c del Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Nordeste.

Entre los objetivos específicos se encuentran determinar la calidad organoléptica y aceptabilidad de las formulaciones e identificar la calidad nutricional de los alimentos piloto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño metodológico.

Se realizó un estudio cuantitativo experimental longitudinal y prospectivo en una muestra de ratones de machos de la cepa Balb-c del Bioterio de la Facultad de Medicina bajo la forma de cohortes sobre 4 grupos de animales, ratones alimentados con las siguientes dietas: B) proteínas de leche, C) proteínas de carne, D) proteínas de huevo y el grupo control fue alimentado con balanceado comercial (dieta A).

Población y muestra.

El muestreo de los animales se realizó a través de conglomerados por sexo, en cada conglomerado los sujetos fueron seleccionados al azar simple, utilizando la tabla de números aleatorios. Se incluyeron ratones adultos de 2 meses de vida que no recibieron ningún tipo de tratamiento o intervención. Se excluyeron los animales con signos de enfermedad o stress.

El tamaño de la muestra se obtuvo según calculador de "Panel Book" on-line con un error del 10% y un nivel de confianza de 95%. El tamaño de la muestra para este estudio fue de 16 ratones y las unidades de análisis fueron asignadas aleatoriamente.

Materiales y métodos.

Los ratones fueron alojados colectivamente en cajas de plástico (n=4/caja) durante el ciclo día/noche, y alimentados ad libitum con las dietas elaboradas y la versión comercial

(grupos experimentales y control respectivamente). La provisión de agua, previamente autoclavada, se realizó con el mismo régimen.

A cada caja se le colocó una tarjeta identificatoria, respectiva a los datos de fecha de nacimiento, sexo y tratamiento (alimento base/dieta comercial) de los animales.

Los murinos fueron tratados durante un mes y medio, el grupo control recibió alimento balanceado comercial (Dieta A), los tres grupos experimentales recibieron alimentos artesanales formuladas a partir de ingredientes naturales autóctonos de la región. La sala de tratamiento de animales fue controlada respecto a la temperatura y los ciclos luz-oscuridad según las recomendaciones vigentes para los murinos. (4)

Las dietas fueron diseñadas en base a los requerimientos nutricionales de los animales (5) y se elaboraron de manera artesanal a partir de la mezcla de ingredientes en seco, el posterior agregado de agua y moldeado manual en forma de pellets, que se secaron en estufa a 110°C durante 40 minutos, se colocaron en freezer a -24°C durante 5 minutos y posteriormente fueron conservados en estufa a 37°C hasta ser suministrados a los murinos. (6)

De esta manera se constituyeron: Dieta B (con proteínas de leche), Dieta C (con proteínas de carne) y Dieta D (con proteínas de huevo), las mismas fueron asignadas aleatoriamente a los grupos experimentales. El monitoreo de los animales y el consumo se realizaron semanalmente por pesaje, observación de pelaje y comportamiento.

Se pesaron los alimentos ofrecidos al comienzo de la experiencia y luego una vez por semana durante un mes y medio (aproximación a la centésima de gramo), observando cambios en las propiedades organolépticas del alimento para además de acuerdo a la cantidad consumida, estimar su aceptabilidad en comparación con la dieta comercial.

Se evaluó el desarrollo de los ratones durante un mes y medio por medición semanal del peso. Este control y registro se efectuó una vez por semana, en los momentos de cambio del lecho de la caja para limpieza. (7, 8)

Análisis de datos.

Los datos obtenidos se evaluarán usando InStat and Prism 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA). Se realizará estadística descriptiva, Análisis de varianza (ANOVA) y Test de Bonferroni para comparar diferencias entre grupos. Un valor de $P < 0.05$ será considerado estadísticamente significativo.

Normas éticas.

Se siguieron normas bioéticas nacionales (Disposición ANMAT 5330/97) e internacionales GLP (Good Laboratory Practices) (9), para el uso de animales de experimentación, contando con el aval del Comité de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Medicina-UNNE.

RESULTADOS

La consistencia y color de los alimentos formulados fueron similares a la versión comercial.

Los animales del grupo control mantuvieron su peso acorde al promedio para la especie (25-30g) al igual que los alimentados con la dieta B, sin embargo aquellos que recibieron dieta C y D se encontraban por debajo del peso aconsejado para la especie y edad.

Respecto al consumo semanal de alimento, el promedio fue de 130,5 g para el grupo control, 114,5 g para la dieta B, 55 g para la dieta C y 109 g para la D. Por tanto se observó un mayor consumo de la dieta A y B respecto a la C y D.

Los animales tratados con balanceado comercial y proteínas de leche mantuvieron su aspecto físico en rangos de normalidad teniendo en cuenta la observación de su pelaje y comportamiento, mientras que en los que recibieron los alimentos a base de proteínas de carne y proteínas de huevo se evidenció pelaje ralo y un marcado comportamiento de hiperactividad. (10)

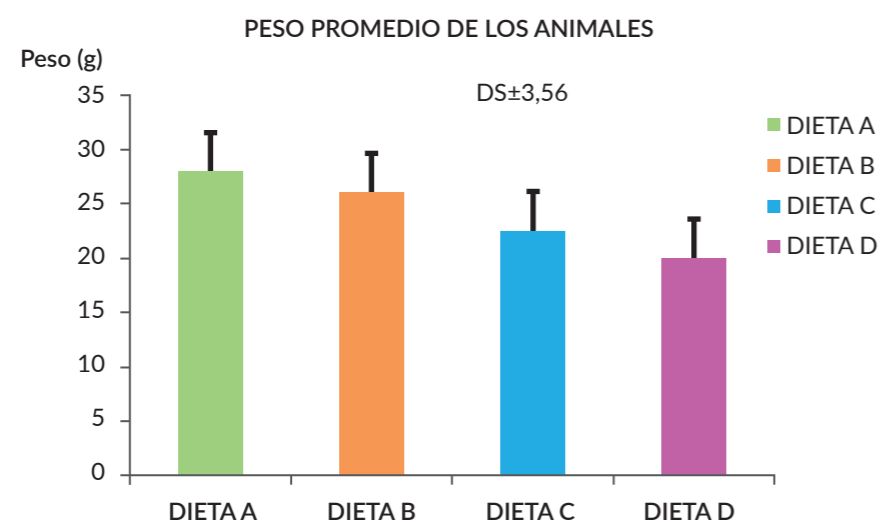


Figura 1. Peso promedio de los animales según la dieta recibida.

COMPOSICIÓN CENTESIMAL DE LAS DIETAS				
DIETAS	PROTEINAS	LIPIDOS	FIBRA	CARBOHIDRATOS
DIETA A	25%	4%	10%	61%
DIETA B	18,83%	4,9%	7,06%	59,3%
DIETA C	20,3%	4,78%	8,98%	58,7%
DIETA D	18,44%	4,61%	4,61%	58,1%

Tabla 1. Composición química de las dietas.

DISCUSIÓN CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos son comparables con los de Cedeño Noblecilla 2013 en donde las proteínas de origen animal han demostrado ser inadecuadas para el consumo de roedores de laboratorio por generar bajo peso a causa de la alteración de las funciones neuroendócrinas del animal producto del alto contenido de calcio y fósforo de estos ingredientes.

Se hace necesario realizar un control de calidad de la dieta B cuyo consumo ha demostrado resultados positivos, realizar nuevos estudios sobre la calidad proteica de la misma y optimizar el proceso tecnológico para su obtención.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Cedeño Noblecilla E. Formulación, elaboración y control de calidad de un alimento balanceado para ratones de experimentación (*Mus Musculus*) del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Espoch. Tesis de grado. Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 2013.
2. Morales J et al. Nuevas fuentes dietarias de ácido alfa-linolénico: una visión crítica. Revista chilena de nutrición. 2012 Septiembre; 39(3).
3. Salgado Cruz María de la Paz et al. Estudio de las propiedades funcionales de la semilla de chía (*Salvia Hispánica*) y de la fibra obtenida de la misma. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México. 2011
4. Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences. Cuidado de los Animales terrestres, Guía de Cuidado y uso de animales de laboratorio. Washington: National Research Council; 1999.
5. National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. Nutrients Requirements of Laboratory Animals. [Online].; 1995 [cited 2017 marzo 2]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK231927/>
6. Berardino G et al. Un método para la preparación de pellets a partir de comida en polvo para roedores de laboratorio. Universidad de Buenos Aires (UBA). Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires. 2010
7. Red Colombiana de CICUALes. Alimentación de Animales de Laboratorio: Guía para el alojamiento y cuidado de animales. Colombia. 2015.
8. Fuentes Paredes F et al. Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón. ISBN 978-9972-857-69-0. Publicación del Centro Nacional de Productos Biológicos. Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú. 2008.

9. Red Colombiana de CICUALes. Disposiciones Generales para la Alimentación de Animales. Colombia. 2015.

10. Barrios E et al. Bioética y el empleo de animales de experimentación en investigación. *Salus*; 15 (2). Valencia. 2011.