

PROBIÓTICOS: CONCEPTOS

A. Ortiz y J.J. Mallo

Norel S.A.

Resumen

Bacterias y animales presentan una relación simbiótica: los animales necesitan una población bacteriana equilibrada en su tracto gastro-intestinal para mantener un estado saludable, evitar infecciones y digerir más efectivamente el alimento, obteniendo nutrientes que de otra manera no estarían disponibles, mientras que las bacterias, por su parte, se benefician de un entorno adecuado y de un suministro continuo de sustrato para fermentar. Los nutricionistas y veterinarios han sido capaces de manejar este equilibrio simbiótico gracias al uso de antibióticos a dosis sub-terapéuticas - antibióticos promotores de crecimiento -. Las nuevas regulaciones en la UE y la tendencia en el resto del mundo hacia la supresión del uso de antibióticos han llevado a destinar esfuerzo de investigación para buscar alternativas, con lo que los probióticos se han destacado como una de las soluciones más efectivas como herramienta para mantener la salud intestinal y gracias a ello evitar desequilibrios en la microbiota intestinal. El uso de probióticos es ya común en la UE y está en crecimiento en el resto del mundo ya que además presentan sinergias en su uso combinado con antibióticos. El presente artículo describe cómo debe ser un probiótico ideal y muestra ejemplos de los resultados que se pueden esperar cuando se usan como aditivo en un pienso.

Introducción

La población bacteriana presente en el intestino presenta cambios asociados al tiempo y las

condiciones externas. En las aves, por ejemplo, la microbiota está afectada, en el inicio, por los microorganismos presentes en el ambiente en la eclosión y en el alimento -Torok, 2011-. Tras la primera colonización bacteriana del intestino, cualquier pequeño cambio en la dieta -mayor inclusión en la fórmula de una materia prima en concreto, diferente origen de los ingredientes, etc...-, el uso de medicamentos, y/o cambios en las condiciones ambientales -temperatura, luz, etc.- pueden producir un desequilibrio del ecosistema microbiano del intestino con consecuencias negativas para los animales -Torok, 2011-. Existe una enorme biodiversidad de microorganismos en un intestino sano pues se han contabilizado más de 600 especies distintas de bacterias -Smith, 1965- con conocidos efectos beneficiosos para su hospedador como por ejemplo, digestión de nutrientes, producción de energía -Mallo, 2012-. Aunque en ocasiones, las variaciones en este delicado equilibrio pueden producir enfermedades.

La microbiota intestinal es un sistema muy complejo y denso -las poblaciones varían entre 10³ y 10¹¹ UFC/g, dependiendo del órgano- esto tiene un impacto significativo sobre la salud y el estado inmunitario del animal -Smith, 1965-. Es, además, una importante barrera que interfiere con los patógenos, inhibiendo el crecimiento de los microorganismos dañinos -bien por exclusión competitiva, competición por los nichos ecológicos o directamente mediante la excreción de sustancias antibióticas naturales- y estimulando la respuesta inmune del epitelio intestinal.

Artículo patrocinado por

El concepto "probiótico" tiene su origen en nutrición humana. El término es el resultado de la unión de dos raíces, una latina "prode", que significa "para" y otra griega "βίο", que significa "vida". Existen muchas definiciones para este término, siendo una de las más aceptadas la descrita por Fuller -1989-, que los define como: "Suplemento microbiano vivo con efecto beneficioso sobre el hospedador mejorando su equilibrio de la flora intestinal". Este beneficio se observa en una mejora del rendimiento, índice de conversión e incluso en una reducción de la mortalidad -Mallo, 2010-.

Los modos de acción de cada probiótico difieren entre sí, pero comparten una serie de puntos en común:

- Son producibles a escala industrial
- Son activos en el intestino
- Producen un efecto beneficioso en el hospedador

Viabilidad de los probióticos

La primera característica de un suplemento probiótico es su composición. Podemos diferenciar entre los que se componen de una sola cepa a una concentración muy elevada, o multi-cepa en los que se pueden encontrar más de dos cepas distintas. Para los casos de probióticos simples, la actividad y el modo de acción están bien definidos y pueden ser demostrados mediante ensayos in-vitro y/o in-vivo, mientras que en los suplementos multi-cepa es más difícil de explicar.

Las bacterias usadas pueden ser "autóctonas" del tracto gastro-intestinal o también pueden ser "alóctonas", es decir, que normalmente se encuentran en otros hábitats externos.

Las bacterias autóctonas son normalmente del tipo lácticas y pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* o *Enterococcus* y las alóctonas, normalmente a los generos *Bacillus* or *Clostridium* -tabla 1-.

La flora láctica se adapta muy bien y rápidamente a las condiciones del intestino - tabla 2 - convirtiéndose rápidamente en la flora predominante e inhibiendo las poblaciones de bacterias patogénicas mediante exclusión competitiva -Bielke, 2003; Taheri, 2009-. Normalmente estas bacterias son gram- o bacterias gram+ no esporogénicas. Esto genera serias dificultades en su manejo: vida útil corta -los probióticos

de esta clase suelen ser cultivos liofilizados que han de estar almacenados a temperaturas por debajo de 8°C-, baja viabilidad post-peletizado, incompatibilidad con ácidos, antibióticos, coccidiostáticos, etc.

Tabla 1. Ejemplos de bacterias usadas como probióticos y capacidad esporogénica

No-Esporogénicas	Esporogénicas
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. amyloliquefaciens</i>
<i>L. Lactis</i>	<i>B. licheniformis</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>B. cereus</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>C. butyricum</i>
<i>L. farciminis</i>	
<i>L. bulgaricus</i>	
<i>E. faecium</i>	
<i>P. acidilactici</i>	
<i>B. bifidum</i>	
<i>B. termophilum</i>	

Tabla 2. Tiempo necesario para doblar la población (in-vitro test)

Bacteria	Tiempo (minutos)
<i>L. acidophilus</i>	64
<i>L. bulgaricus</i>	40
<i>S. termophilus</i>	46
<i>E. faecium</i>	19
<i>E. coli</i>	20
<i>S. cerevisiae</i>	200
<i>B. subtilis</i>	60

(*) Diaz, 2007

Las bacterias alóctonas, sin embargo, son seleccionadas normalmente para resistir las condiciones de almacenaje, sobrevivir al proceso de granulación y ser compatibles en su uso junto a antibióticos, acidificantes y coccidiostáticos. Estas bacterias -*Bacillus* y *Clostridium*- son en la mayor parte de los casos esporogénicas, son capaces de formar esporas cuando las condiciones ambientales son adversas y permanecer latentes en esta forma resistente hasta que las condiciones vuelvan a ser favorables para su crecimiento. Industrialmente, se induce la esporulación en la parte final del proceso productivo del probiótico, obteniéndose así un producto muy estable que sólo se activará en el interior del animal. Muchas de estas bacterias alóctonas se pueden también encontrar en el tracto gastrointestinal del animal aun no habiendo estado expuesto a un probiótico, lo que demuestra cómo el ambiente externo influye en el ecosistema bacteriano intestinal. En todos los casos, los probióticos deben ser no patogénicos, resistentes a los jugos intestinales y al procesado, estable en almacenaje y ser capaz de adherirse al epitelio del intestino. Deben tener también persistencia, producir compuestos inhibidores y modular la respuesta inmune así como la actividad de otros microorganismos del intestino - Siragusa, 2012 -.

Las bacterias seleccionados con estos criterios se cultivan en fermentadores de tamaño industrial y después se concentran mediante centrifugación, este concentrado es después secado mediante "spray-drying", liofilización o filtrado para obtener un polvo de fácil uso

Actividades de las bacterias probióticas

En general, los probióticos, mejoran la conversión, reducen las mortalidades, estimulan la respuesta inmune y protegen frente a patógenos entéricos - Siragusa, 2012 -. Estas actividades están reguladas por el ambiente en el que se desarrollan.

Todas las bacterias sintetizan enzimas que les permiten romper los carbohidratos de cadena larga, las proteínas y grasas para poder utilizarlos como fuente de energía o como componentes estructurales en su crecimiento y reproducción. Las bacterias probióticas también presentan esta actividad una vez en el interior del animal, colaborando activamente en la digestión del alimento en el intestino. Algunas de las bacterias usadas como probióticos se han utilizado industrialmente precisamente por su alta capacidad de sintetizar enzimas como por ejemplo *B. amyloliquefaciens* - EC, 2012 -.

Además, al fermentar carbohidratos para obtener energía, uno de los metabolitos generados es ácido láctico, el cual es liberado directamente en el lumen - Ljung, 2006 -, y tiene un demostrado efecto positivo sobre la flora láctica - Kaupp, 1925 -.

Una vez que las bacterias probióticas se activan,

comienzan a reproducirse aumentando su población hasta estabilizarse. Algunas presentan altas velocidades de colonización, ocupando nichos ecológicos que de otra manera quedarían libres para ser ocupados por bacterias potencialmente patogénicas, a este mecanismo se le llama exclusión competitiva. En algunos casos, además, tienen la capacidad de excretar bacteriocinas, antibióticos naturales, que son capaces de controlar el crecimiento de otras bacterias. Todas estas excreciones tienen como objetivo dominar el medio en el que se encuentran haciéndolo adecuado para su crecimiento y el de otras bacterias beneficiosas.

Por último, la microbiota intestinal tiene un efecto significativo sobre el sistema inmune del animal - Cortesy, 2007; Herich, 2002; Klasing, 2007; Ljungh, 2006; Siragusa, 2012 -; por ejemplo, en animales bajo un modelo de enteritis crónica, Jerzsele - 2011 - encontró que los animales suplementados con probióticos presentaron una mayor producción de interleukina 1- β .

Gracias a todos estos efectos los probióticos son capaces de ayudar a los animales a crecer más eficientemente; esto, junto con la disminución de las bajas, redundará en unos mayores beneficios para el productor.

Efectos de los probióticos en los animales

Los probióticos mejoran el índice de conversión en broilers y lechones, unos efectos que han sido evaluados por la Unión Europea para los casos en los que el aditivo ha sido registrado para su uso en producción animal. También mejoran la vitalidad de los animales - Mallo, 2010 -. Se han encontrado reducciones de la mortalidad del orden de 3 a 5 puntos porcentuales en ensayos de campo - Mallo, 2010 -. Esta mejora de la vitalidad podría estar explicada por un sistema inmune más robusto que mejora la resistencia frente a infecciones.

Para el caso de lechones, los probióticos también ayudan en la adaptación a la alimentación sólida tras el destete, atenuando los problemas asociados a esta transición.

Bacillus amyloliquefaciens CECT-5940 es un ejemplo de las cepas registradas en la UE para su uso como probiótico en avicultura a dosis de 5×10^5 a 10^6 UFC/g de pienso.

B. amyloliquefaciens se presenta en esporas, por lo que es capaz de soportar el proceso de granulación - tabla 3 -; esto, junto a su compatibilidad con ácidos, antibióticos y coccidiostatos - tabla 4; los recuentos no bajan más de un log -, hacen el producto muy fácil de manejar.

Tabla 3. Recuento de bacterias tras granulación a 90°C

UCF/g de pienso antes	UFC/g de pienso después
2,60 x 10 ⁶	2,25 x 10 ⁶
1,68 x 10 ⁶	1,50 x 10 ⁶
1,27 x 10 ⁶	1,16 x 10 ⁶

Tabla 4. Compatibilidad de *B. amyloliquefaciens* con antibacterianos.

Antibacteriano	UFC/g antes de contacto con el compuesto	UFC/g tras 24 horas en contacto con el compuesto
Acético (1 g/kg)	1,02 x 10 ⁶	5,65 x 10 ⁵
Fórmico (1 g/kg)	9,67 x 10 ⁵	5,50 x 10 ⁵
Propiónico (1 g/kg)	7,31 x 10 ⁵	4,92 x 10 ⁵
Chlorphenicol 10% (2 g/ kg)	1,41 x 10 ⁷	1,23 x 10 ⁷
Enramycine 4% (0.5 g/kg)	0,73 x 10 ⁷	0,6 x 10 ⁷
Zinc bacitracina 10% (2 g/kg)	1,39 x 10 ⁷	0,91 x 10 ⁷
Neomycine sulphate	1,55 x 10 ⁷	1,14 x 10 ⁷

Una vez dentro del animal, las esporas germinan y comienzan excretar enzimas, principalmente amilasas, proteasas y lipasas que mejoran la digestibilidad de la ración como se puede observar en las tablas 5 y 6.

Al analizar la capacidad de producción de ácido láctico, en un estudio in-vitro se observó que 1 gramo de *B. amyloliquefaciens* es capaz de producir 1,8 g de ácido láctico en 1 hora si dispone de suficiente sustrato para fermentar.

Además, el *B. amyloliquefaciens* produce una bacteriocina llamada Barnasa, tratándose de una ribonucleasa que inhibe el crecimiento de bacterias patogénicas y controlando de este modo la población intestinal -tabla 7-.

Tabla 5. Efecto de probióticos en la digestibilidad de la proteína, grasa y almidón (a 42 días de edad) (*)

Digestibilidad	Proteína, %	Grasa, %	Almidón, %
Control	70,8	75,4	84,2
B. amyloliquefaciens (106 UFC/g de pienso)	76,5	80,9	87,4
P	P<0,0001	P<0,02	P<0,05

(*) Sánchez, 2006

Tabla 6. Efecto de probióticos sobre la digestibilidad de la materia seca (MS), grasa (EE), materia orgánica (MO) y cenizas a 42 días de edad (*)

Digestibilidad	MS	EE	MO	Cenizas
Control	70,3	65,0	71,9	37,6
Probiótico multi-cepa (105 UFC/g de pienso)	74,8	71,0	74,0	49,6
P	P<0,5	P<0,002	P<0,001	P<0,001

(*) Mountzouris, 2010

Gracias a todas estas capacidades, el probiótico basado en esporas de *B. amyloliquefaciens* CECT-5940 mejora la conversión en broilers. Este efecto ha sido evaluado por la Unión Europea, aprobando su uso como mejorador de la producción en broilers con el número de registro 4B1822.

La efectividad de este probiótico fue testada en un meta-análisis que incluyó 10 granjas con un total de 2,24 millones de pollos. El probiótico se añadió al pienso a una dosis de 1 Kg/Ton. El pienso se presentó granulado y se analizó para constatar que la dosis final era la adecuada y no había sido afectada por la granulación. En 9 de las granjas se comparó el desempeño de los animales frente a los datos históricos de las explotaciones. En la granja restante, 3 edificios - 10.000 pollos/nave - recibieron el probiótico y al mismo tiempo otros 3 un pienso control. La homogeneidad de los datos fue analizada y se combinaron en el meta-análisis. Los parámetros analizados fueron: el peso final, el índice de conversión - consumo/ganancia de peso - y la mortalidad en el cebo completo. Los resultados se muestran en la tabla 8, pudiéndose concluir que el probiótico mejoró el índice de conversión y redujo la mortalidad.

Tabla 7. Efecto de *B. amyloliquefaciens* sobre el recuento de lactobacilli y *E. coli* en broilers a 7 y 42 días de edad (*)

Tratamientos	Control UFC/g	<i>B. amyloliquefaciens</i> UFC/g	Diferencia	Significación
<i>Lactobacilli:</i>				
Día 7	8,14 x 10 ⁸	1,73 x 10 ⁹	+113%	P<0,05
Día 35	2,46 x 10 ⁸	5,45 x 10 ⁸	+122%	P<0,05
<i>E. coli:</i>				
Día 7	5,74 x 10 ⁷	2,94 x 10 ⁷	-49%	P<0,05
Día 35	1,56 x 10 ⁷	9,74 x 10 ⁶	-38%	P<0,16

(*) Mallo, 2010

Tabla 8. Efecto de *B. amyloliquefaciens* sobre la producción de broilers: meta-análisis (*)

Tratamientos	Control	<i>B. amyloliquefaciens</i>	Diferencia	P<F
Peso final, g	2.632	2.678	+1,7 %	0,37
Índice conversión	2,01	1,95	-3,0%	<0,05
Mortalidad, %	8,3	5,3	-36,1%	<0,0001

(*) Mallo, 2010

Tabla 9. Efecto de *B. amyloliquefaciens* sobre la producción de broilers

Tratamientos	Mortalidad, %	Días a matadero	Peso final, g	Índice conversión	EPEF
Control	6,77	49,45	2.644	2,06	242
<i>B. amyloliquefaciens</i>	6,28	46,97	2.575	1,98	259
P	Ns	0,0351	Ns	0,0906	

En otro reciente estudio de campo en el que se monitorizó el rendimiento de 211.000 broilers, se compararon parámetros productivos de 10 diferentes naves, 5 de las cuales recibieron un pienso control y las restantes un pienso con 1 kg/t de *B. amyloliquefaciens*. Las condiciones de manejo fueron las de un ciclo de producción estándar siguiendo todos los parámetros recomendados por la integración. Se monitorizó el peso final, el consumo, la ganancia en peso, el índice de conversión, la mortalidad y los días hasta el matadero. Los resultados fueron los representados en la tabla 9.

Los animales que recibieron el probiótico no solamente tuvieron un índice de conversión mejor, sino que además fueron capaces de llegar más rápidamente al peso de matadero, lo que, unido a unas mortalidades numéricamente mejores, dieron como resultado un factor de eficiencia europeo –EPEF– mejor.

Conclusiones

Mantener la salud intestinal en condiciones óptimas ha de ser uno de los objetivos de los nutricionistas ya que si se deteriora los animales no serán capaces de aprovechar eficientemente el alimento ni expresar su potencial productivo. La estabilidad de la microflora es clave para el mantenimiento de la salud intestinal, siendo el uso de probióticos una herramienta de utilidad demostrada gracias a su capacidad de interactuar con otras bacterias modulando su crecimiento. Si a esto añadimos los beneficios derivados de la producción de ácido láctico, bacteriocinas y enzimas, no solamente seremos capaces de reducir la incidencia de infecciones, sino que además mejoraremos la digestibilidad de la ración obteniendo una mejora de los índices productivos.

Bibliografía

(Se enviará a los interesados que la soliciten)