

EFICACIA DE *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* SUBSP. *INFANTIS* CECT 7210 Y *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* HN001, OLIGOGALACTOSA Y SU COMBINACIÓN FRENTE A *ESCHERICHIA COLI* ENTEROTOXIGÉNICA (ETEC) F4+ EN UN MODELO DE LECHÓN RECIÉN DESTETADO

Rodríguez-Sorrento¹, A.¹, Castillejos, L.¹, Lopez-Colom, P.¹, Cifuentes-Orjuela, G.², Rodríguez-Palmero, M.², Moreno-Muñoz, J.A.², y Martín-Orúe, S.M.¹

¹Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain.

*agustina.rodriguez@uab.cat

²Laboratorios Ordesa S. L., Parc Científic de Barcelona, C/Baldiri Reixac 15-21, 08028 Barcelona, Spain.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas en la producción porcina es la aparición de diarreas al destete derivadas del estrés que sufren los animales durante ese periodo (Lallès et al., 2007). Estas diarreas van asociadas comúnmente a la proliferación de *Escherichia coli* enterotoxigénica (Fairbrother et al., 2005). Para su prevención y tratamiento, debido al actual aumento de resistencias bacterianas a los antibióticos, se está intentando reemplazar su uso terapéutico por la administración de otros compuestos entre los que se encuentran los probióticos y prebióticos.

Bifidobacterium longum subsp. *infantis* CECT 7210 es una cepa probiótica con una alta resistencia a las condiciones gastrointestinales y una gran capacidad de adhesión al mucus intestinal, que ha demostrado prevenir la infección por Rotavirus en ratas (Moreno et al., 2011) y reducir la colonización intestinal de ETEC y *Salmonella* en lechones (Barba-Vidal et al., 2017). *Lactobacillus rhamnosus* HN001 ha demostrado modular y potenciar el sistema inmunitario (Good et al., 2014; Sheih et al., 2001). Por otro lado, la administración de galacto-oligosacáridos (GOS) se ha asociado a un incremento del crecimiento de bifidobacterias en humanos (Depeint et al., 2008) y a la inhibición de la adhesión de *Escherichia coli* en cultivos celulares (Shoaf et al., 2006), en adición también a una actividad inmunomoduladora (Vulevic et al., 2015). Teniendo todos estos factores en cuenta, la administración conjunta de las mencionadas cepas probióticas con GOS podría resultar de interés.

El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la eficacia de *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT7210 (Laboratorios Ordesa S.L.) y *Lactobacillus rhamnosus* HN001, un prebiótico basado en GOS, o su combinación simbiótica frente a *Escherichia coli* enterotoxigénica F4+ utilizando un modelo experimental de lechón destetado.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la Universidad Autónoma de Barcelona previa aprobación del Comité de Ética (Nº permiso CEAH2933). Se utilizaron 96 lechones machos de 21 días (5,0±0,51 kg), distribuidos en 32 corrales asignados a 5 tratamientos: control no inoculado (CTR+), control inoculado (CTR-), combinación probiótica (PRO), prebiótico (PRE) y simbiótico (SYN), siendo inoculados estos últimos cuatro grupos. Los animales recibieron la combinación probiótica (10⁹ UFC/animal*día de cada cepa) y el prebiótico (GOS, 5%) en la dieta. Tras una semana de adaptación, los lechones se inocularon oralmente con ETEC F4+ (K88ab, K88ac, LT, STb, EAST1) en una única dosis de 1.2x10¹⁰ UFC, mientras que a los no infectados se les administró caldo estéril (BHI). Se registró el consumo de pienso, el peso de los animales y se evaluó la consistencia fecal y la temperatura rectal, además de muestrear heces. Los días 4 y 8 post-inoculación (PI), se eutanasió un animal de cada corral y se recogieron muestras de sangre, raspado de mucosa ileal y tejido ileal fijado en formol. Se realizaron recuentos de enterobacterias y coliformes en heces y raspados ileales. En suero se determinaron diferentes biomarcadores de inflamación

(TNF- α (citoquina pro-inflamatoria) y PigMAP (principal proteina de fase aguda en el cerdo) y a nivel ileal diversos parámetros histomorfológicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron diferencias significativas en el consumo de pienso y ganancia de peso diarios entre los distintos tratamientos. Durante el período PI únicamente los animales de los grupos CTR- y SYN mostraron una reducción relevante en ambos parámetros, en comparación a CTR+ (Ganancia media diaria (GMD): 236^a, 201^{ab}, 152^{ab}, 92^b y 118^b g/d, P=0,002; Consumo medio diario (CMD): 308^a, 267^{ab}, 227^{abc}, 165^c y 218^c g/d, P=0,001 para CTR+, PRO, PRE, SYN y CTR- respectivamente). No se observaron diferencias significativas en la consistencia fecal entre los tratamientos desafiados. En relación a los recuentos de enterobacterias y coliformes en heces, se encontraron reducciones a día 8 PI con PRO y SYN, pero no con PRE, en comparación con CTR- (Fig. 1). En raspados ileales, todos los lechones desafiados mostraron valores significativamente más altos que los del CTR+, excepto los del grupo PRO con incrementos no significativos (Fig. 1).

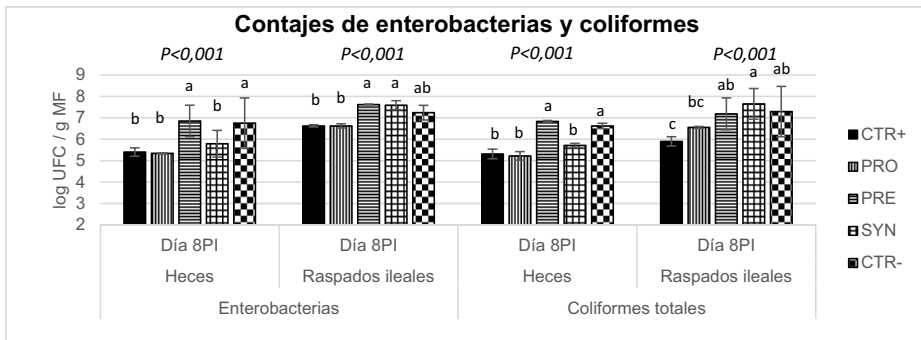


Figura 1. Contajes de enterobacterias y coliformes en heces y raspados ileales (UFC/ g MF). CTR+: Animales no inoculados recibiendo placebo; CTR-: Animales inoculados recibiendo placebo; PRO: Animales inoculados recibiendo probióticos; PRE: Animales inoculados recibiendo prebiótico; SYN: Animales inoculados recibiendo probióticos+prebiótico.

En relación a los cambios histomorfológicos a nivel ileal, a día 4 PI se observó un claro acortamiento de las vellosidades intestinales en los grupos desafiados sin diferencias entre dietas. Sin embargo, a día 8 PI, los animales tratados con PRO mostraron una mejor recuperación de la longitud de las mismas (Tabla 1).

Tabla 1. Efectos en la histomorfológica ileal 4 y 8 días post-inoculación.

	Tratamiento							P-valor
	Día	CTR +	PRO	PRE	SYN	CTR -	RSD	
Longitud vellosidades (µm)	4	311,7 ^a	241,4 ^b	246,7 ^b	245,2 ^b	220,9 ^b	34,76	<0,001*
	8	336,7 ^a	291,7 ^{ab}	272,1 ^b	269,0 ^b	266,4 ^b	28,59	<0,001*
Profundidad criptas (µm)	4	272,4 ^{ab}	271,9 ^{ab}	282,4 ^a	251,6 ^{ab}	241,8 ^b	22,10	0,020*
	8	271,3	274,0	271,3	250,5	278,3	36,17	0,710

CTR+: Animales no inoculados recibiendo placebo; CTR-: Animales inoculados recibiendo placebo; PRO: Animales inoculados recibiendo probióticos; PRE: Animales inoculados recibiendo prebiótico; SYN: Animales inoculados recibiendo probióticos+prebiótico.

Por último, la combinación simbiótica SYN mostró los valores más altos de TNF- α a día 4 PI (86^{ab}, 98^{ab}, 75^b, 118^a, 77^b mg/ml, P=0,013 para CTR+, PRO, PRE, SYN y CTR- respectivamente) y de PigMAP a día 8 PI (0,51^b, 0,57^b, 0,56^b, 2,43^a, 0,62^b mg/ml, P=0,003 para CTR+, PRO, PRE, SYN y CTR- respectivamente).

En conclusión, estos resultados sugieren que los animales que recibieron en la dieta la combinación probiótica tuvieron una mejor respuesta después del desafío oral con *E. coli* ETEC F4+. Esta mejora podría deberse tanto a una disminución en la colonización intestinal por el patógeno como a una mejor recuperación del daño ocasionado por el mismo, considerando que exclusivamente este tratamiento fue capaz de mantener los números de enterobacterias y coliformes similar al grupo no infectado y de promover una normalización de las vellosidades intestinales. No obstante, la combinación del probiótico con oligo-galactosa (SYN) no mostró estos beneficios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barba-Vidal, E. et al. 2017. *Front Microbiol* 8: 533
- Depeint, F. et al. 2008. *Am. J. Clin. Nutr* 87: 785–791
- Fairbrother, J.M. et al 2005. *Anim Health Res Rev* 6(1):17-39.
- Good, M. et al. 2014. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1;306(11):G1021-32
- Llalès, J.P. et al. 2007. *Livest Sci* 108:82–93
- Moreno, J.A. et al. 2011. *Appl Environ Microbiol.* 77(24):8775-83
- Sheih, Y.H. et al 2001. *J Am Coll Nutr* 20(2 Suppl):149-56
- Shoaf, K. et al. 2006. *Infect Immun* 74(12):6920-8
- Vulevic, J. et al. 2015. *Br. J. Nutr* 114: 586–595

Agradecimientos: El presente trabajo forma parte del proyecto SMARTFOODS Ref. IDI-20141216 (Programa CIEN) concedido por CDTI.

EFFICACY OF *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* SUBSP. *INFANTIS* CECT 7210 AND *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* HN001, OLIGOGALACTOSE AND THEIR COMBINATION AGAINST ENTEROTOXIGENIC *ESCHERICHIA COLI* (ETEC) F4+ IN AN EARLY WEANED PIGLET MODEL

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the efficacy of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT7210 (Laboratorios Ordesa S.L.) and *Lactobacillus rhamnosus* HN001, oligogalactose and their synbiotic combination against a ETEC F4+ challenge in weanlings. A total of 96 3-week-old piglets (5.0 \pm 0.51 kg) were distributed into 32 pens and 5 experimental groups: non-inoculated control (CTR+) and inoculated control (CTR-), probiotic combination (PRO), prebiotic (PRE) and symbiotic (SYN), all last four, orally challenged. Animals received the probiotic (10⁹ CFU/day each strain) and the prebiotic (5%) in the feed. After one week, animals were orally challenged with the pathogen (1.2x10¹⁰ CFU) and fecal consistency evaluated. Furthermore, feces were sampled for microbiological analysis. On days 4 and 8 post-inoculation (PI), one animal per pen was euthanized and samples from blood (for TNF- α & Pig-MAP) and ileal tissues (histomorphology) were taken. Animals receiving PRO performed better and showed lower increments of enterobacteria and coliforms in ileal scrapings after the challenge (P<0.001). Villi height also showed a better recovery with this treatment at day 8PI (P<0.001). The synbiotic combination (SYN) did not show these benefits suggesting that beneficial effects of PRO were lost when combined with oligogalactose.

Keywords: probiotic, prebiotic, synbiotic, *coli*