



[COMPARTIENDO LA VISIÓN]

Probióticos en avicultura y porcicultura: la intersección entre salud intestinal y nutrición

Alfred Blanch, DVM, PhD
Consultor Técnico

Chr. Hansen A/S, Hørsholm (Dinamarca)

Congreso Pecuario 2017, Costa Rica





[COMPARTIENDO LA VISIÓN]

INDICE:

- ✓ La importancia de la microbiota intestinal
- ✓ Definición de probiótico
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: mecanismos de acción y especificidad
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en aves
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en porcino
- ✓ Conclusiones





[COMPARTIENDO LA VISIÓN]

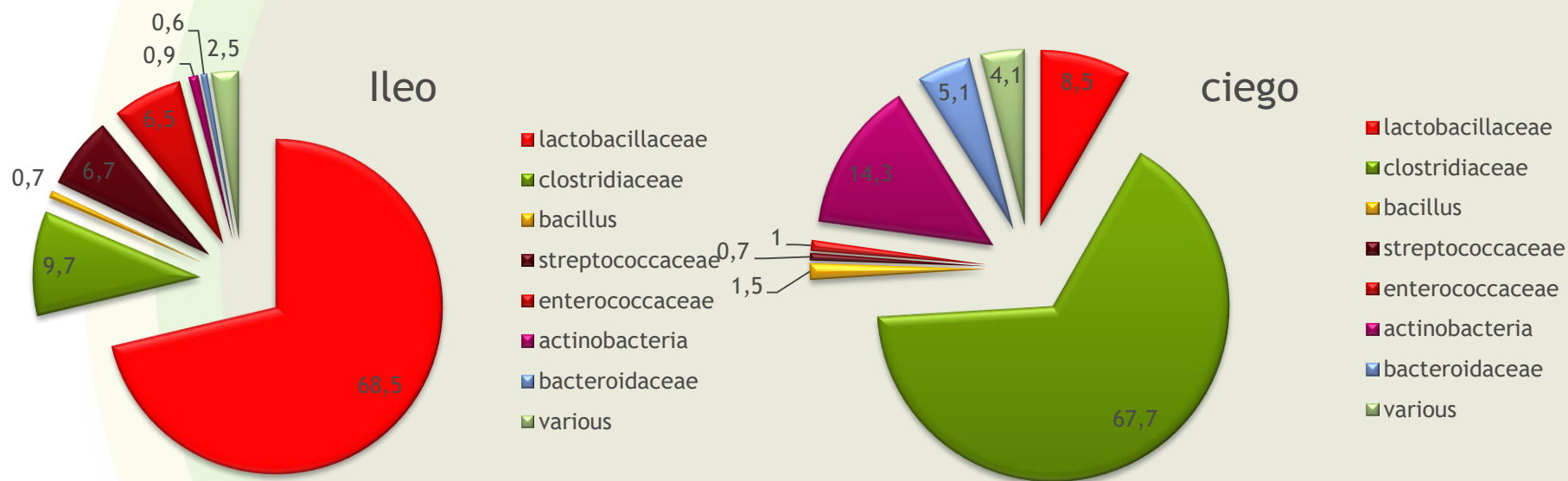
INDICE:

- ✓ La importancia de la microbiota intestinal
- ✓ Definición de probiótico
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: mecanismos de acción y especificidad
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en aves
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en porcino
- ✓ Conclusiones



Microbiota intestinal en pollos

Composición de la microbiota en pollos determinada por secuenciación de 1.230 clones (16S rDNA).



Lu, AEM Vol69 (11) p.6816-6824,2003

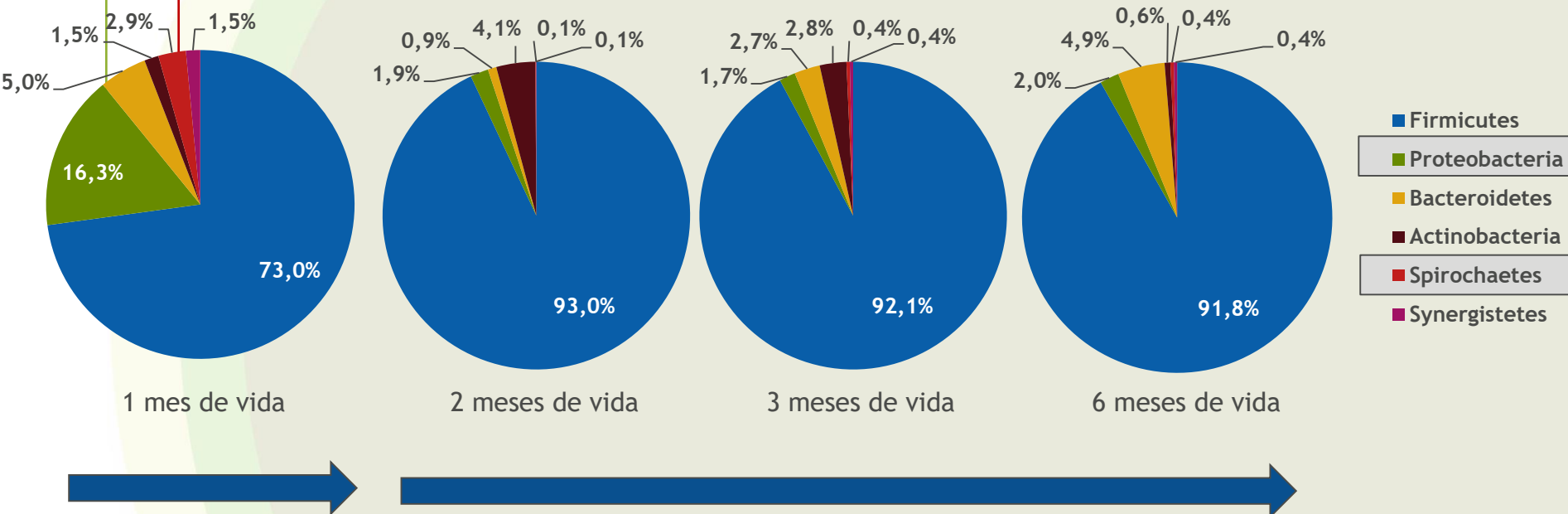


Desarrollo de la microbiota intestinal en porcino

Efecto de la edad

Determinado mediante secuenciación 16S rRNA

Bacterias típicamente dañinas



- ▶ Drástico cambio en la composición hasta los 2 meses de edad
- ▶ Pequeños cambios después de los 2 meses de edad

Fuente: Zhao W. et al. (2015)



Microbiota intestinal; factores estresantes



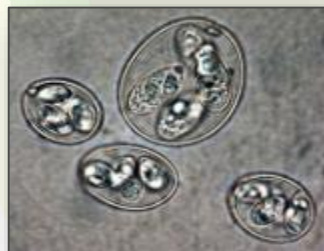
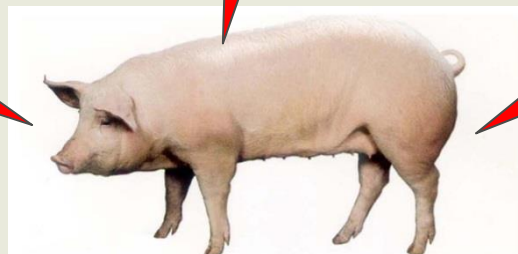
Bacterias patógenas



Ración



Virus



Coccidiosis



Ambiente y manejo



Gusanos

Enhancing the microbial population within poultry

WORLD POULTRY

By Todd Callaway, USDA. Oct. 18, 2016

The accelerating rate of discoveries (microbiome) is dizzying and we see in a way that we never could **before the importance of the microbial population of the gut, and how profoundly that impacts host animal well-being and productivity.**



The fact that the microbiome is so inextricably linked with host growth and energy status, indicates a **bright promise for improving poultry growth efficiency by manipulating the microbial population through diet and probiotic approaches**





[COMPARTIENDO LA VISIÓN]

INDICE:

- ✓ La importancia de la microbiota intestinal
- ✓ **Definición de probiótico**
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: mecanismos de acción y especificidad
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en aves
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en porcino
- ✓ Conclusiones



Definición de probiótico



“Microorganismos vivos, que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios sanitarios al animal hospedador”

(WHO, 2001)



El objetivo de la adición de probióticos en raciones para animales es optimizar la producción animal mientras se logra también un buen estado sanitario a nivel intestinal”





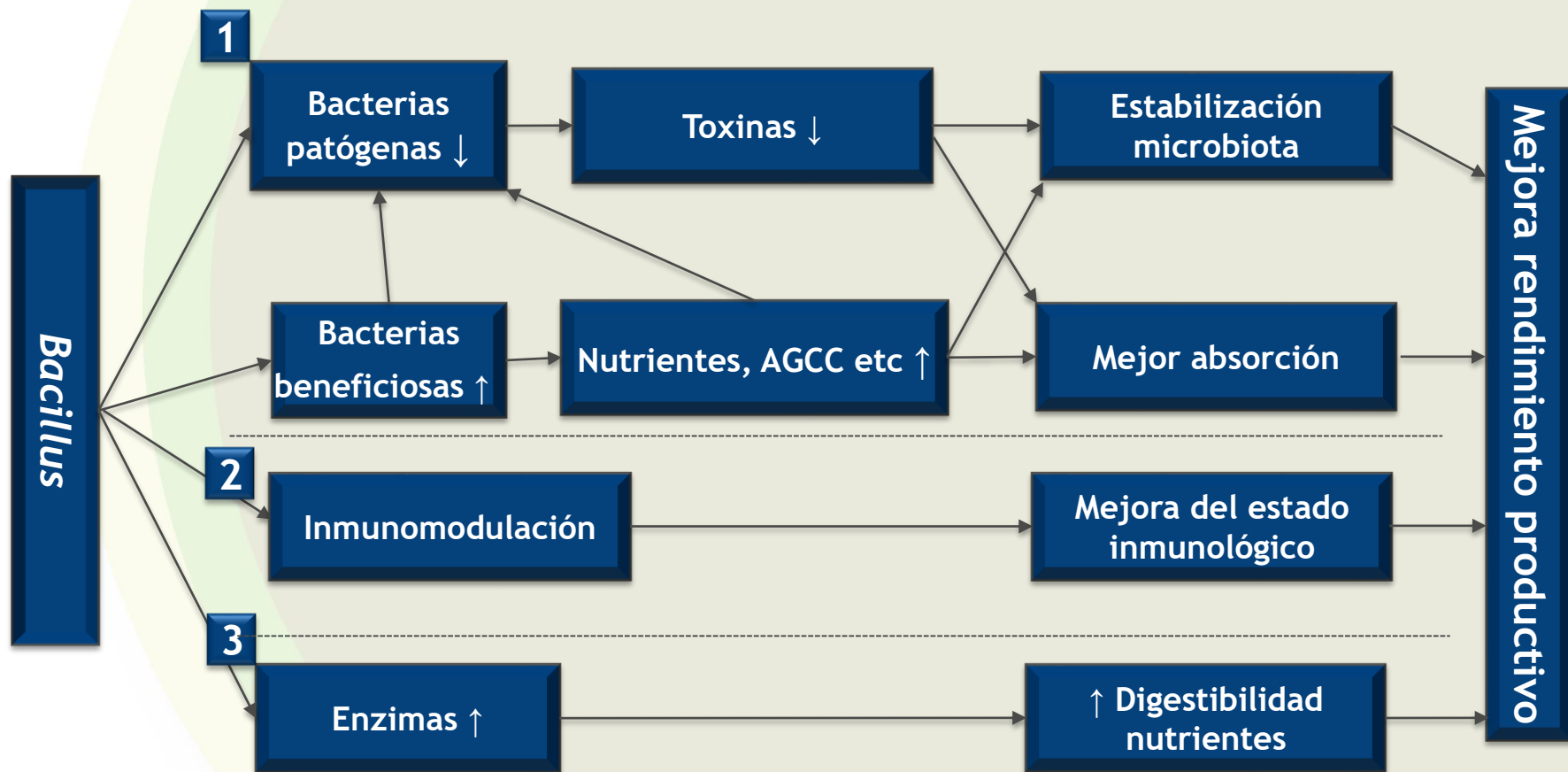
[COMPARTIENDO LA VISIÓN]

INDICE:

- ✓ La importancia de la microbiota intestinal
- ✓ Definición de probiótico
- ✓ **Probióticos en base al género *Bacillus*: mecanismos de acción y especificidad**
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en aves
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en porcino
- ✓ Conclusiones



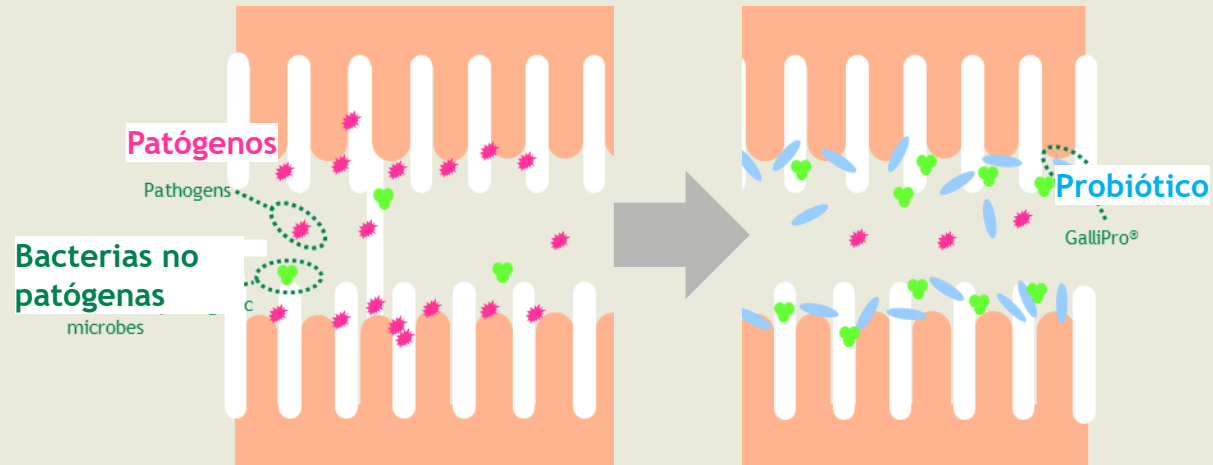
Mecanismos de acción: Efectos probióticos del género *Bacillus* en el intestino



Regulación probiótica de la microbiota intestinal

Exclusión competitiva de las bacterias patógenas

- ▶ Los probióticos pueden competir por espacio en la superficie intestinal
- ▶ Los probióticos pueden producir metabolitos que inhiban el crecimiento de las bacterias patógenas o la expresión génica de su virulencia



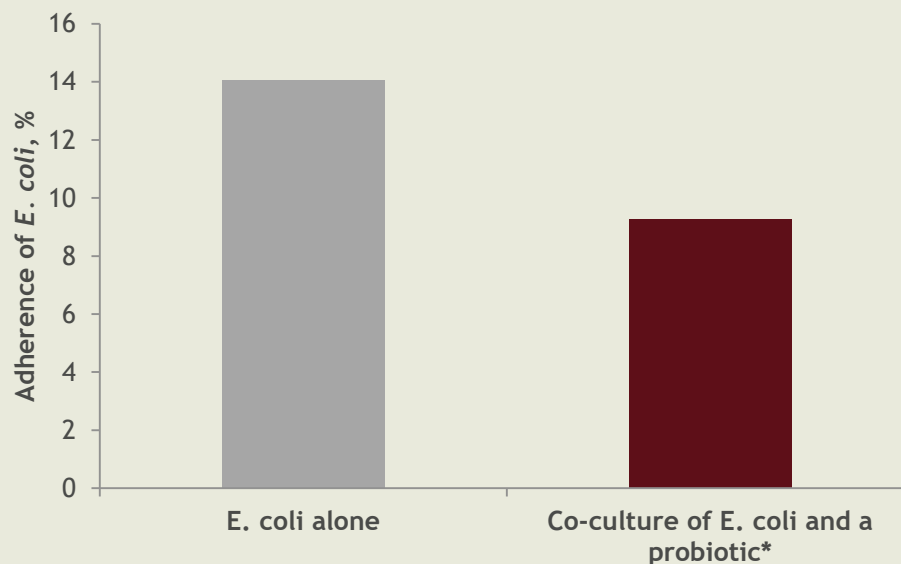
El proceso de exclusión competitiva limita la colonización de algunas bacterias patógenas



Los probióticos previenen la adhesión de patógenos entéricos en el epitelio intestinal porcino

Efecto protector en epitelio porcino (IPEC-J2) contra ETEC *E. coli* O147:K89 F4+ porcino

- ▶ 1 hora de estimulación de las células epiteliales antes del mostreo



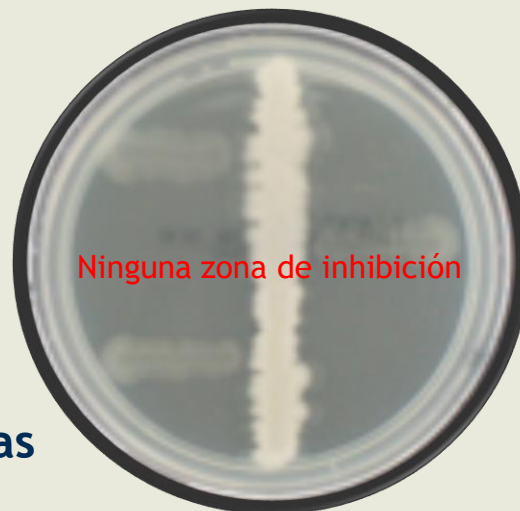
- ▶ Los probióticos pueden prevenir mediante exclusión competitiva desórdenes intestinales causados por patógenos entéricos

*: combination of *B. licheniformis* & *B. subtilis*

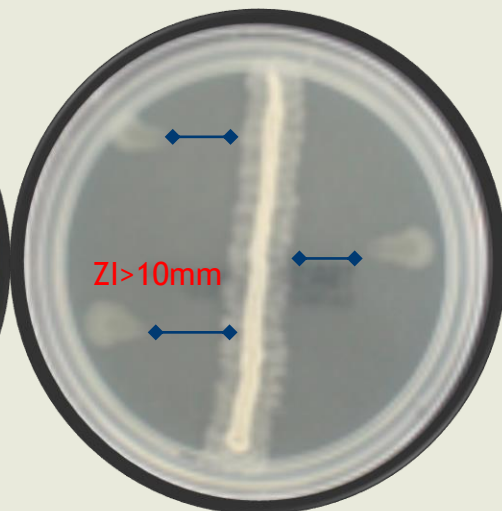


Modulación probiótica de la microbiota intestinal

Clostridium perfringens Tipo C



B. subtilis

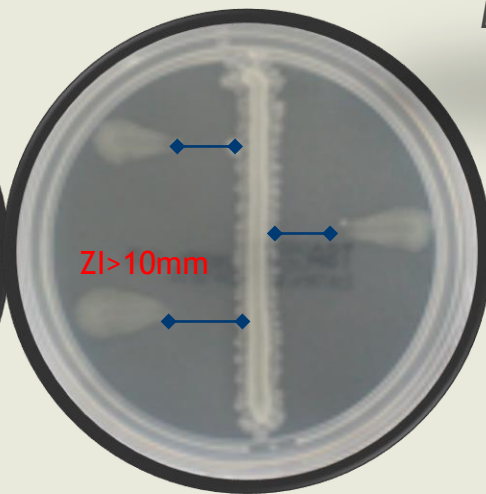


B. licheniformis

Inhibición directa de bacterias dañinas



B. subtilis



B. licheniformis

Clostridium perfringens Tipo A



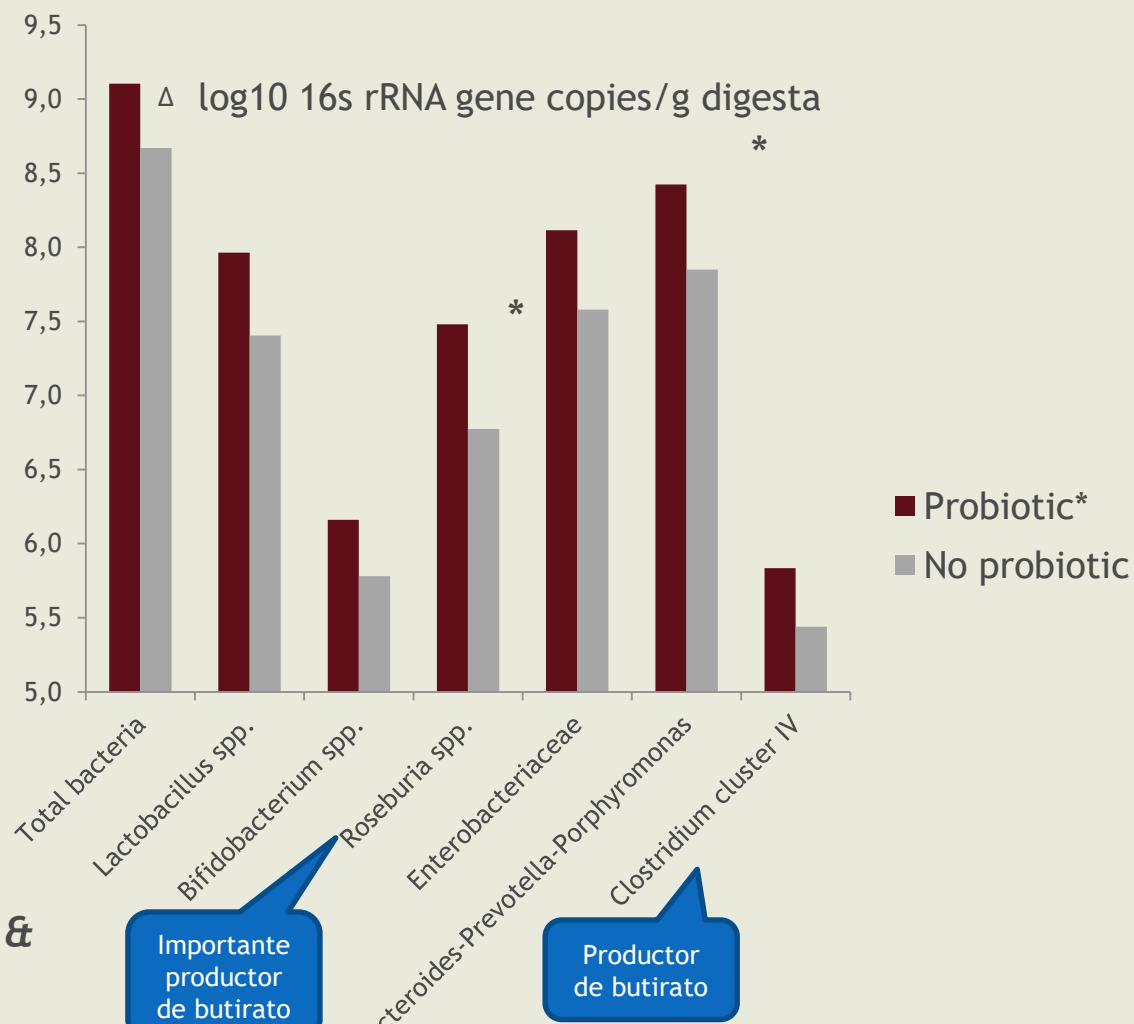
Modulación probiótica de la microbiota intestinal (porcino)

- ▶ Uni. de Hohenheim, Alemania
- ▶ 8 cerdos canulados
- ▶ qPCR tiempo real
- ▶ Más bacterias del ácido láctico
- ▶ Más bifidobacterias
- ▶ Más bacterias productoras de butirato

Conclusión

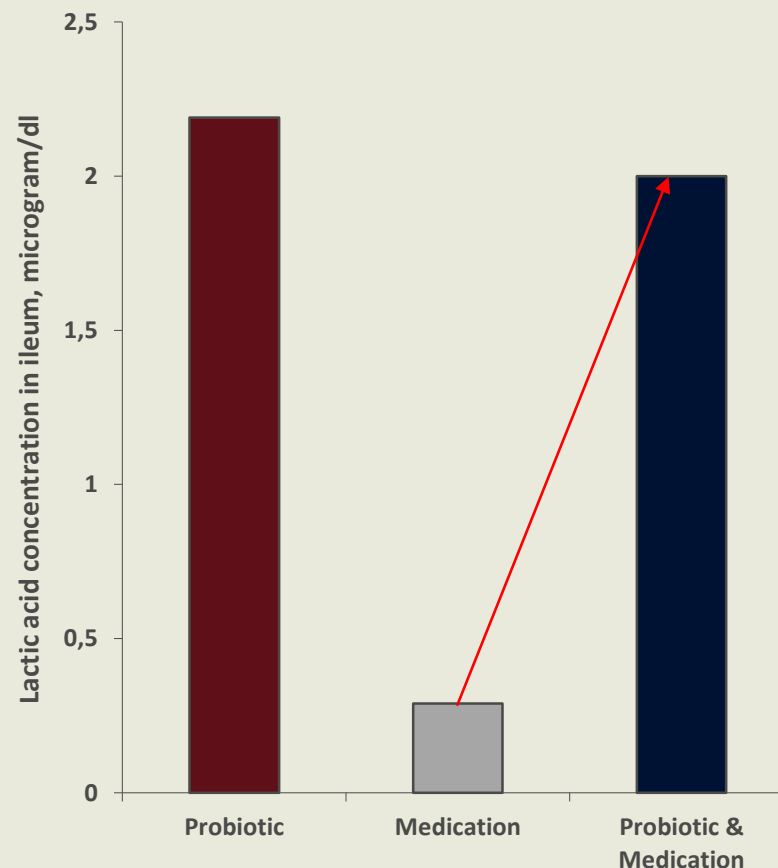
- ▶ Modulación beneficiosa de la microbiota del intestino delgado debida a la suplementación del probiótico

*: combinación de *B. licheniformis* & *B. subtilis*



Modulación probiótica de la microbiota en ileo (porcino)

- ▶ Combinación de probiótico y antibióticos
- ▼ 96 lechones; 32 animales/grupo;
- ▼ Periodo: 7-27 kg
- ▼ Tratamientos:
 - ▶ Probiótico:
 - ▼ 1.6E+09 *B. subtilis* & 1.6E+09 *B. licheniformis* / kg ración
 - ▶ Medicación:
 - ▼ 110 ppm Tilosina (fases 1&2)
 - ▼ 55 ppm carbadox (fase 3)
 - ▼ 110 ppm lincomicina (fase 4)
- ▼ Resultado
 - ▶ Incremento de la concentración de bacterias del ácido láctico en comparación al grupo tratado sólo con antibiótico



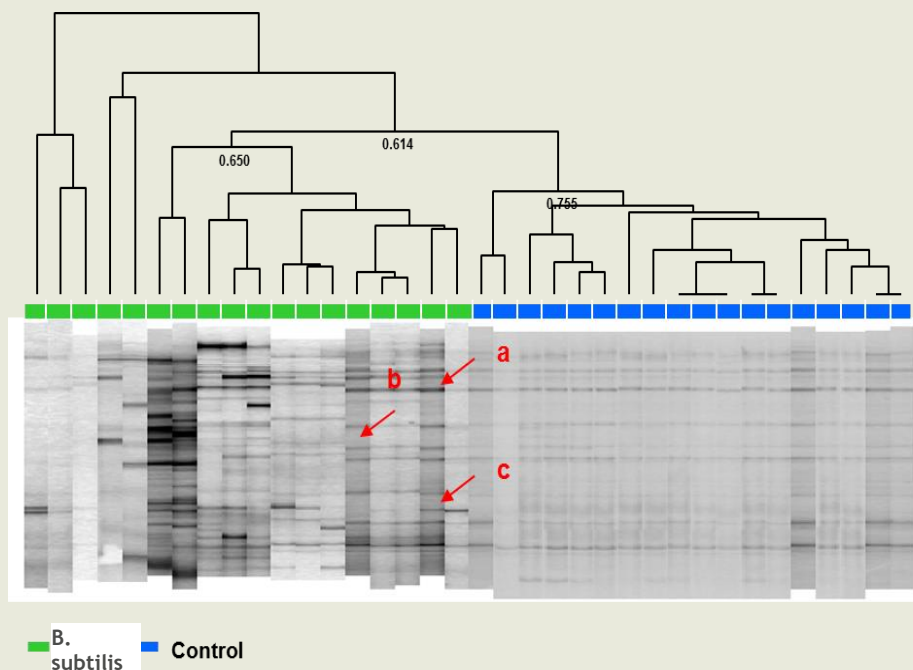
Fuente: estudio de la Universidad de North Carolina, Estados Unidos, 2001



Modulación de la microbiota intestinal (pollos)

Fuente: A.Knarreborg et al,2008. Int. Journal of probiotics and prebiotics vol.3, N°2, pp 83-88

Tratamientos	Dosis del probiótico en la dieta
Control	-
<i>Bacillus subtilis</i> DSM 17299	8×10^5 CFU / g



a: *Lactobacillus salivarius*
b: *Streptococcus*
c: *Lactobacillus paracasei*

La diversidad microbiana se incrementó con *B. subtilis* DSM 17299



Modulación de la microbiota intestinal (pollos)

Bacillus subtilis (DSM17299) significantly reduces *Salmonella* in broilers

I. Knap,* A. B. Kehlet,*¹ M. Bennedsen,* G. F. Mathis,† C. L. Hofacre,‡ B. S. Lumpkins,†
M. M. Jensen,* M. Raun,* and A. Lay*

2011 Poultry Science 90:1690–1694
doi:10.3382/ps.2010-01056

Table 1. Treatment groups¹

Treatment	Birds per treatment (no.)	<i>Salmonella</i> challenge (cfu)
Control	60	None
Positive control	420	7.5×10^4
<i>Bacillus subtilis</i> (8×10^5 cfu/g of feed)	420	7.5×10^4



Modulación de la microbiota intestinal (pollos)

Bacillus subtilis (DSM17299) significantly reduces *Salmonella* in broilers

I. Knap,* A. B. Kehlet,*¹ M. Bennedsen,* G. F. Mathis,† C. L. Hofacre,‡ B. S. Lumpkins,†
M. M. Jensen,* M. Raun,* and A. Lay*

2011 Poultry Science 90:1690–1694
doi:10.3382/ps.2010-01056

Table 3. *Salmonella* in environmental swab testing by culture and bacterial load in cecal samples by quantitative real-time PCR on d 42

Treatment	Drag swabs ¹ (%)	Cecal samples ² (cfu/g)
Control	0	1.06×10^2
Positive control	100 ^a	1.72×10^{6a}
<i>Bacillus subtilis</i> (8×10^5 cfu/g of feed)	42 ^b	1.10×10^{3b}

^{a,b}Means within columns with different superscript letters differ significantly ($P \leq 0.05$).

¹*Salmonella*-positive drag swab samples.

²*Salmonella* load in cecal samples.



No todos los miembros de una misma especie son iguales

Canis lupus lupus



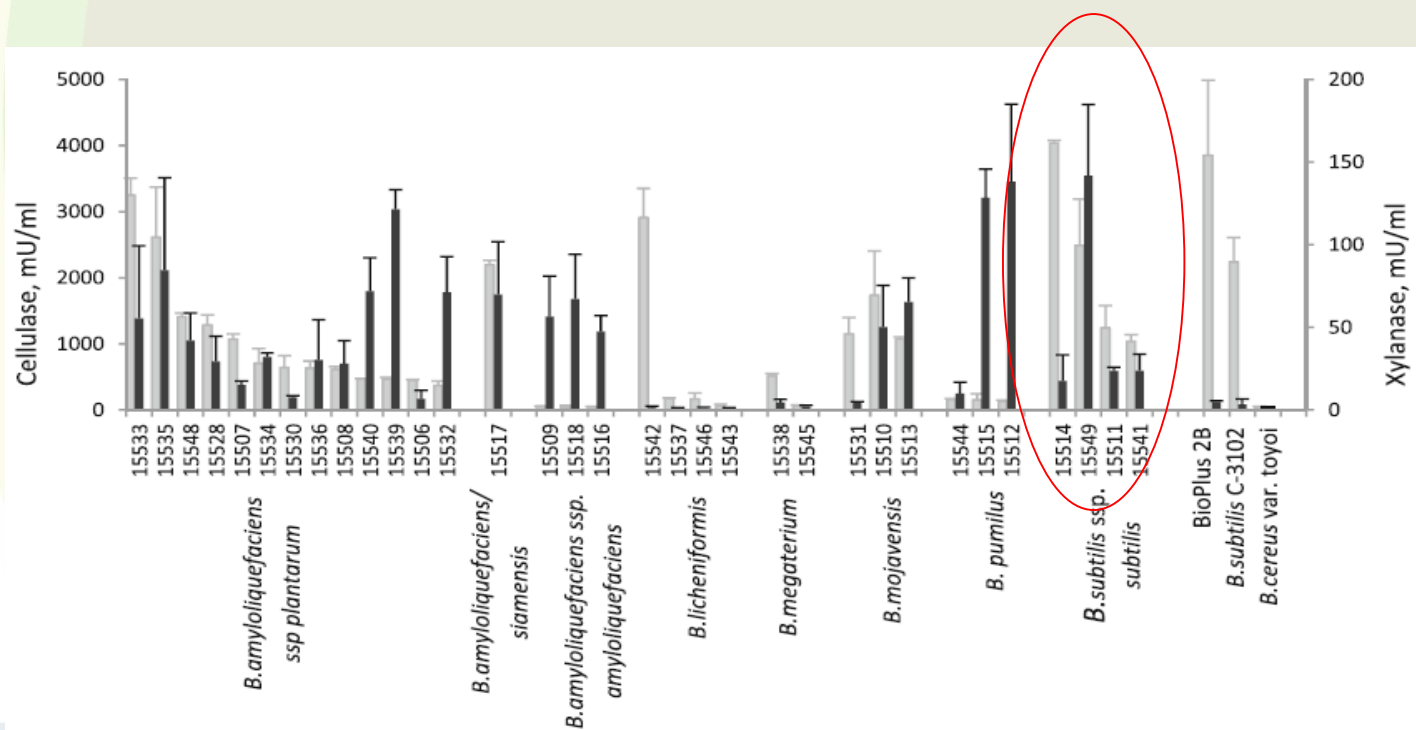
Canis lupus familiaris



Cepas probióticas específicas: no todos los *Bacillus* son iguales

La elección del
Bacillus es crucial

- Pueden haber grandes diferencias entre *B. subtilis*
- Algunos *B. subtilis* producen diferentes tipos y cantidades de enzimas





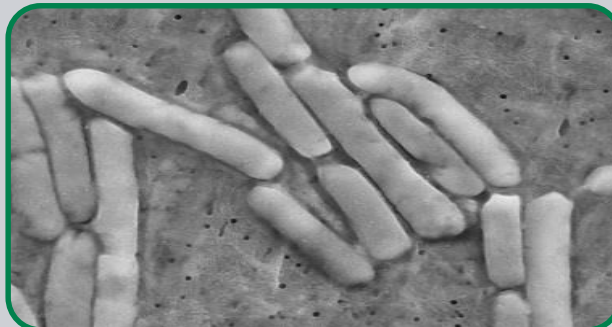
[COMPARTIENDO LA VISIÓN]

INDICE:

- ✓ La importancia de la microbiota intestinal
- ✓ Definición de probiótico
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: mecanismos de acción y especificidad
- ✓ **Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en aves**
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en porcino
- ✓ Conclusiones



Cepa seleccionada: *Bacillus licheniformis*



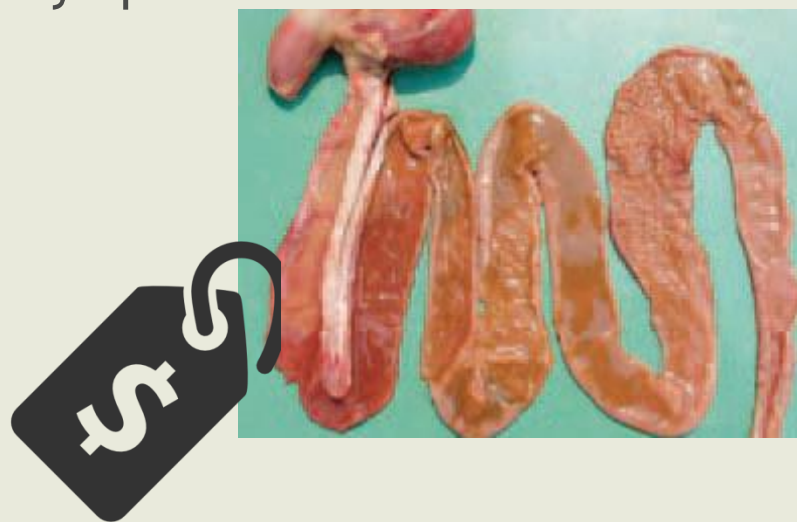
Bacillus licheniformis

DSM 5749



Papel de los probióticos del género *Bacillus* en la prevención y paliación de EN

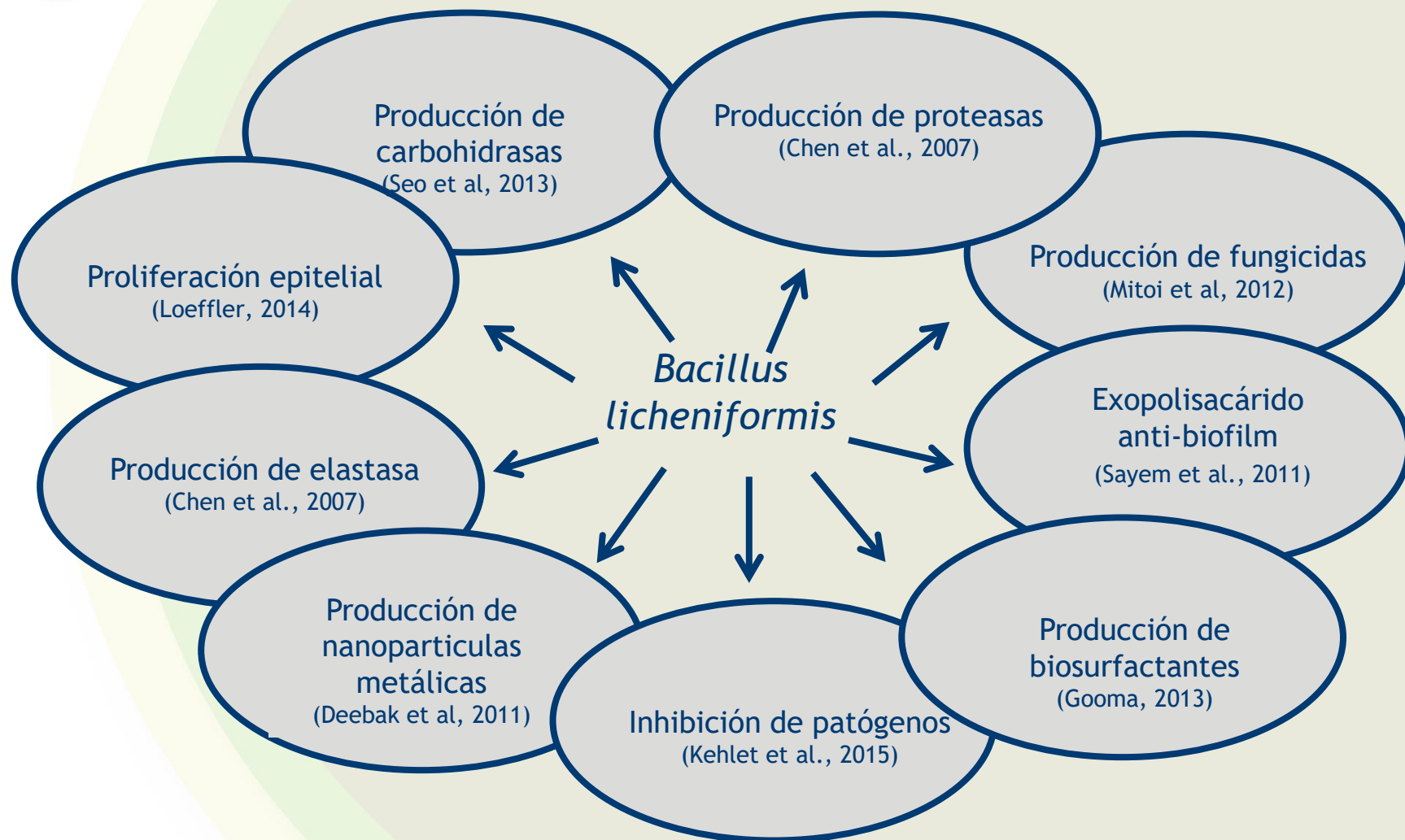
- ▶ Enteritis necrótica (EN): una enfermedad mundial que se encuentra allá donde haya pollos



- ▶ Las pérdidas derivadas de la EN se acercaron a 6 billones de dólares en 2015 (World Poultry, Marzo 2016)
- ▶ El verdadero impacto económico de la EN no viene de aquellas aves que mueren por la infección, sino por aquellas que sufren el proceso subclínicamente y sobreviven.

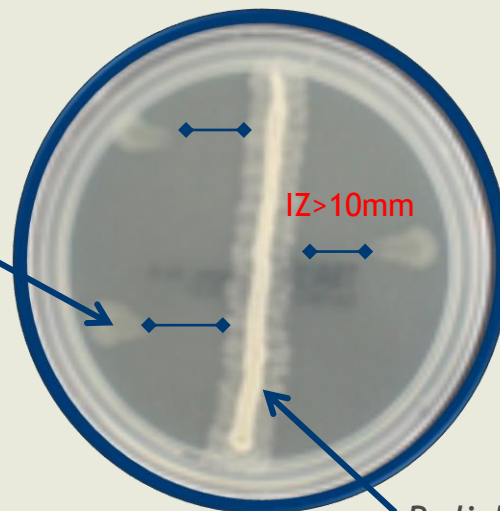


Modos de acción de *Bacillus licheniformis*



Clostridium perfringens, inhibición in vitro

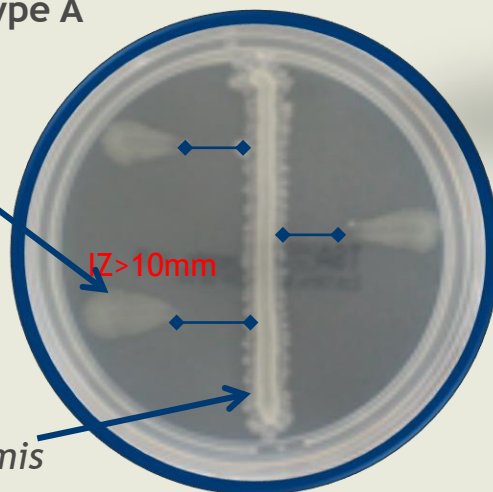
Clostridium perfringens Type C



IZ > 10mm

B. licheniformis

Clostridium perfringens Type A



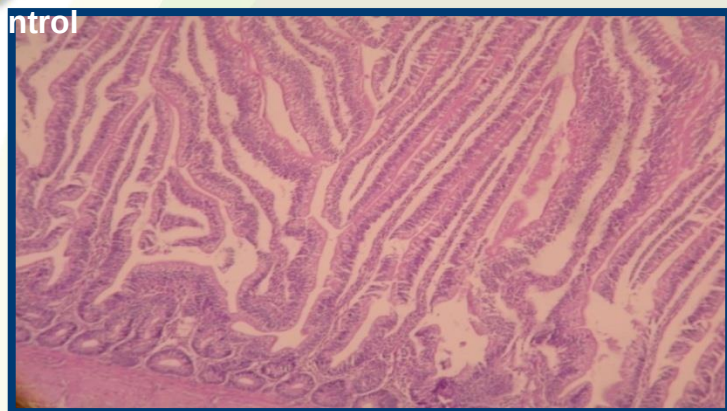
IZ > 10mm

B. licheniformis

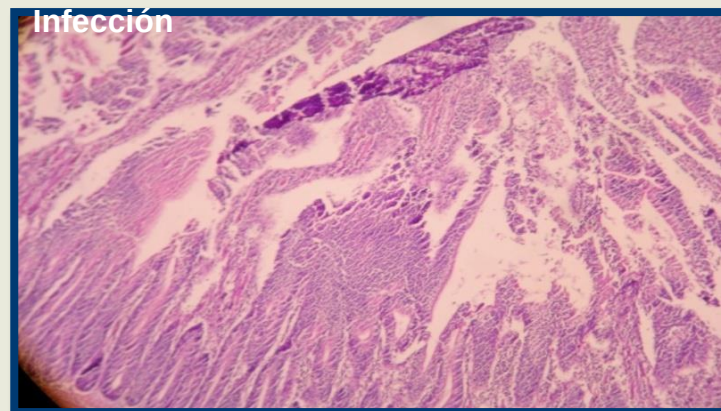
Poultry Science Association Annual Meeting 2015



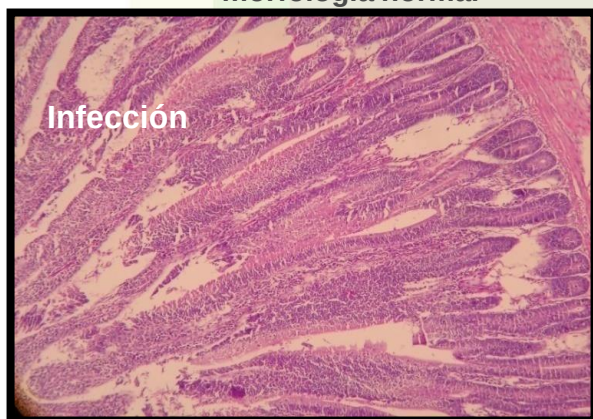
Efecto de *B. licheniformis* sobre la morfología intestinal en pollos con EN



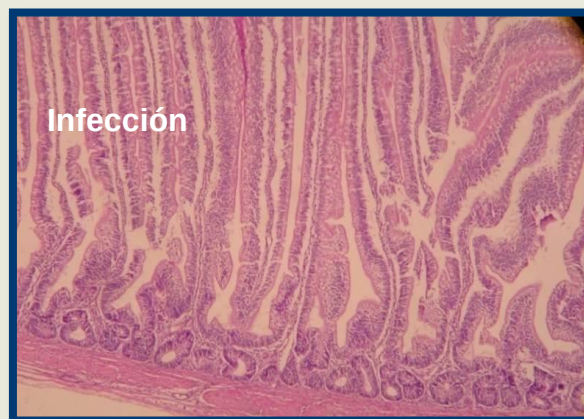
Aves control no infectadas:
morfología normal



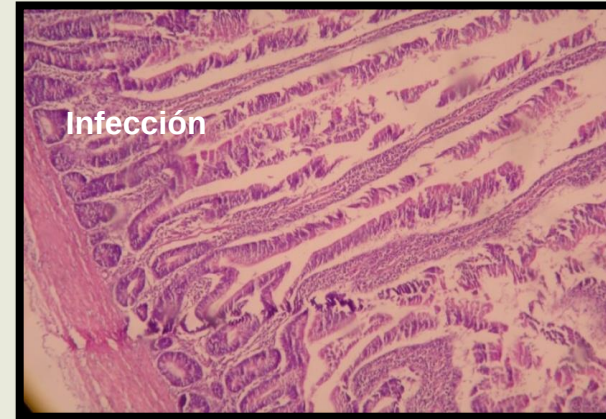
Aves infectadas con *C. perfringens* (24 días de edad):
vellosidades dañadas y severa infiltración de leucocitos



Aves infectadas con *C. perfringens* y
tratadas con antibiótico
(24 días de edad): vellosidades
dañadas e infiltración de leucocitos



Aves infectadas con *C. perfringens* y
suplementadas con *B. licheniformis*
(24 días de edad): morfología normal



Aves infectadas con *C. perfringens* ,
tratadas con antibiótico y
suplementadas con *B. licheniformis*
(24 días de edad): leve infiltración





Efecto de *B. licheniformis* en clostridiosis in vivo (pollos)

AVIAN DISEASES 54:931–935, 2010

Research Note—

Bacillus licheniformis Prevents Necrotic Enteritis in Broiler Chickens

I. Knap,^{AD} B. Lund,^A A. B. Kehlet,^A C. Hofacre,^B and G. Mathis^C

^AChr. Hansen A/S, Boege Alle 10-12, 2970 Hoersholm, Denmark

^BDepartment of Avian Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Georgia, Athens, GA 30602

^CSouthern Poultry Research, Inc., 2011 Brock Road, Athens, GA 30607

Received 15 October 2009; Accepted and published ahead of print 2 February 2010



Efecto de *B. licheniformis* en clostridiosis *in vivo* (pollos)

B. licheniformis prevents NE in broiler chickens

933

Table 3. Result from battery study 1 on feed conversion ratio, weight gain, NE lesion score, and NE mortality.^A

Treatment	Feed conversion	Weight gain	Lesion score NE (0–3)	
	Day 0–28	Day 0–28	Day 22	Mortality % NE
1. Nonmed., no CP	1.517 d	0.992 a	0.0 c	0.0 c
2. Nonmed., CP	1.952 a	0.539 c	0.8 a	48.4 a
3. DSM 17236 (8×10^5 CFUs/G), CP	1.768 b	0.779 b	0.4 b	34.4 b
4. DSM 17236 (8×10^6 CFUs/g), CP	1.634 c	0.896 a	0.3 b	28.1 b
5. DSM 17236 (8×10^7 CFUs/g), CP	1.606 c	0.931 a	0.1 bc	26.6 b
6. Virginiamycin (15 g/ton), CP	1.599 cd	0.934 a	0.2 bc	26.6 b

^AMeans in a column with no common letters (a, b, c, d) are significantly different ($P < 0.05$).

Table 4. Result from battery study 2 on feed conversion ratio, weight gain, NE lesion score, and NE mortality.^A

Treatment	Feed conversion	Weight gain	Lesion score NE (0–3)	
	Day 0–28	Day 0–28	Day 22	Mortality % NE
1. Nonmed., no CP	1.729 c	0.862 ab	0.0 c	0.0 c
2. Nonmed., CP	2.313 a	0.652 d	1.4 a	46.9 a
3. DSM 17236 ($2 \times 8 \times 10^5$ CFUs/g) day 0–28, CP	2.102 b	0.762 c	0.6 bc	15.6 b
4. DSM 17236 ($20 \times 8 \times 10^5$ CFUs/g) day 0–21, CP	2.095 b	0.785 c	0.9 b	15.6 b
5. Virginiamycin (15 g/ton), CP	2.037 b	0.803 bc	0.4 bc	14.1 bc

^AMeans in a column with no common letters (a, b, c, d) are significantly different ($P < 0.05$).

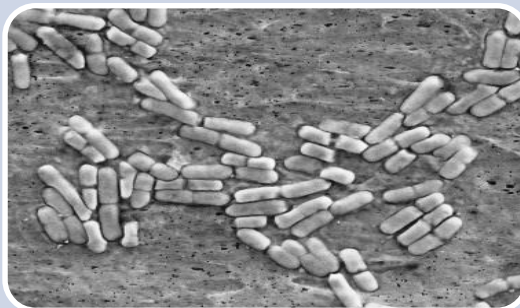
Reducción significativa de la gravedad de las lesiones de EN y de la mortalidad





[COMPARTIENDO LA VISIÓN]

CEPA SELECCIONADA: *Bacillus subtilis* DSM 17299

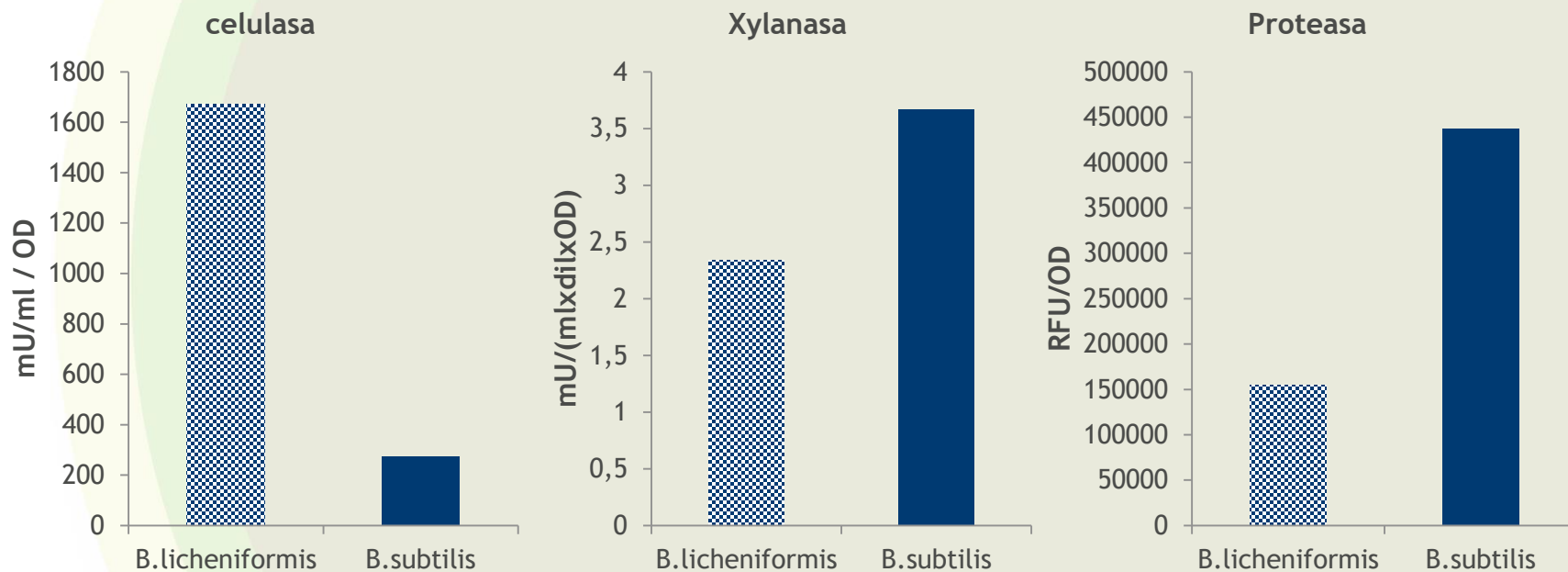


Bacillus subtilis
DSM 17299



Producción de enzimas digestivas

Densidad óptica (mU/ml/OD)

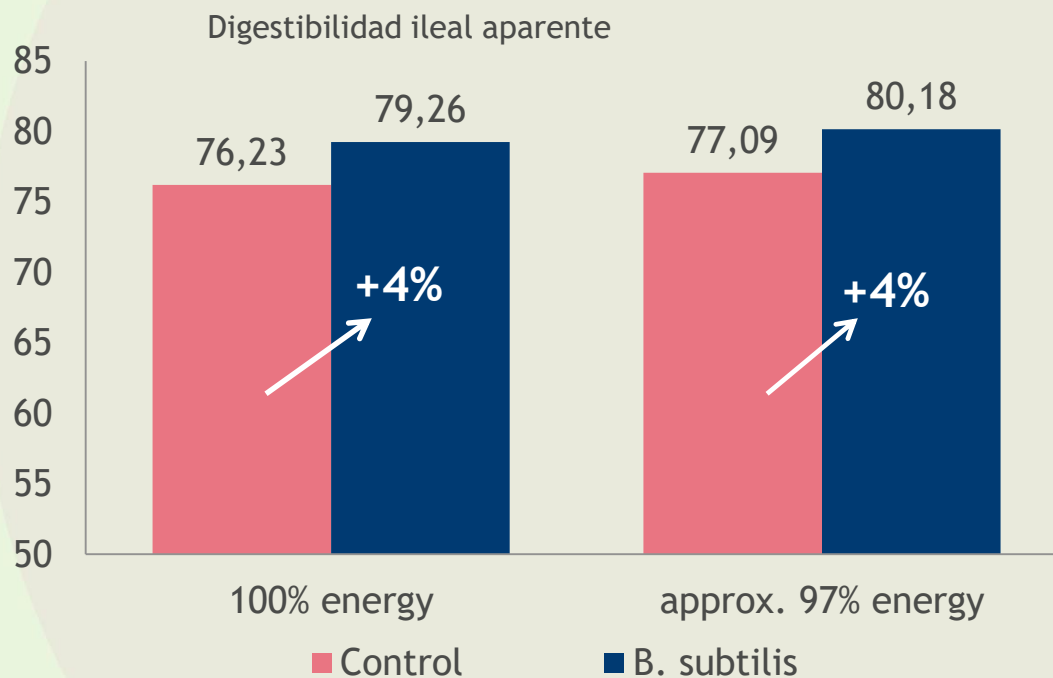


Fuente: Chr. Hansen, Innovation CD News M1001



Digestibilidad de la proteína (pollos)

Jin et al, 2016. International Poultry Scientific Forum, Atlanta



ANOVA: Energy NS; Probiotic $p < 0,001$; Energy x GalliPro NS





Efecto de *Bacillus subtilis* DSM 17299 sobre los rendimientos productivos en pollos broiler

Meta-análisis de 14 pruebas con el fin de cuantificar y corroborar las mejoras productivas debidas a la suplementación de *Bacillus subtilis* DSM 17299 en la dieta de pollos de 0 a 42 días de vida.

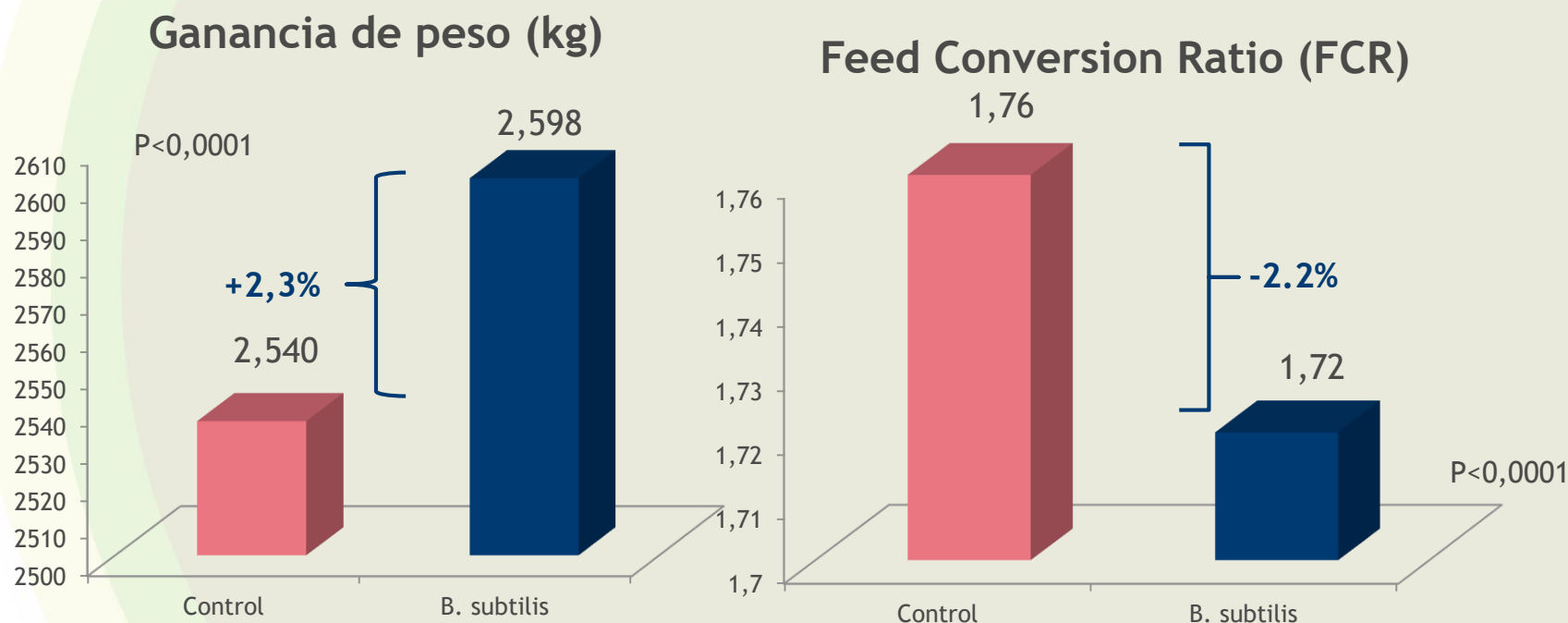
Catorce pruebas cumplían los criterios de selección:

- ✓ Número total de pollos : 14.788, 532 replicas (14 pruebas en Europa y América)
- ✓ Tratamientos: Control y *Bacillus subtilis* DSM 17299 (8×10^5 CFU/g pienso)
- ✓ Duración: desde la eclosión hasta 42 días de edad
- ✓ Parámetros seleccionados: ganancia de peso, índice de conversión y mortalidad a los 42 días de vida





Efecto de *Bacillus subtilis* DSM 17299 sobre los rendimientos productivos en pollos broiler



Resultados consistentes :
Bacillus subtilis DSM 17299 mejora significativamente los rendimientos zootécnicos de las aves





Inmunomodulación y *B. subtilis*

Effect of *B. subtilis* on the double vaccination Gumboro and Newcastle in immune depressed chickens

Reference : Ali Asghar Sadeghi et al, 2014. Probiotic & antimicro.Prot. DOI 10.1007

Diseño experimental:

4 tratamientos : 40 aves/tratamiento (4 jaulas/tratamiento)

10 pollos broiler Ross 308 de 1 día de vida / jaula

T1 : control negativo

T2 : *B. subtilis* (DSM 17299) 8×10^5 CFU/g de ración

T3 : control positivo infectado con *Salmonella enterica* administrada oralmente en el día 7

T4 : control positivo infectado con *Salmonella enterica* oralmente en el día 7 + *B. subtilis* (DSM 17299) 8×10^5 CFU/g de ración



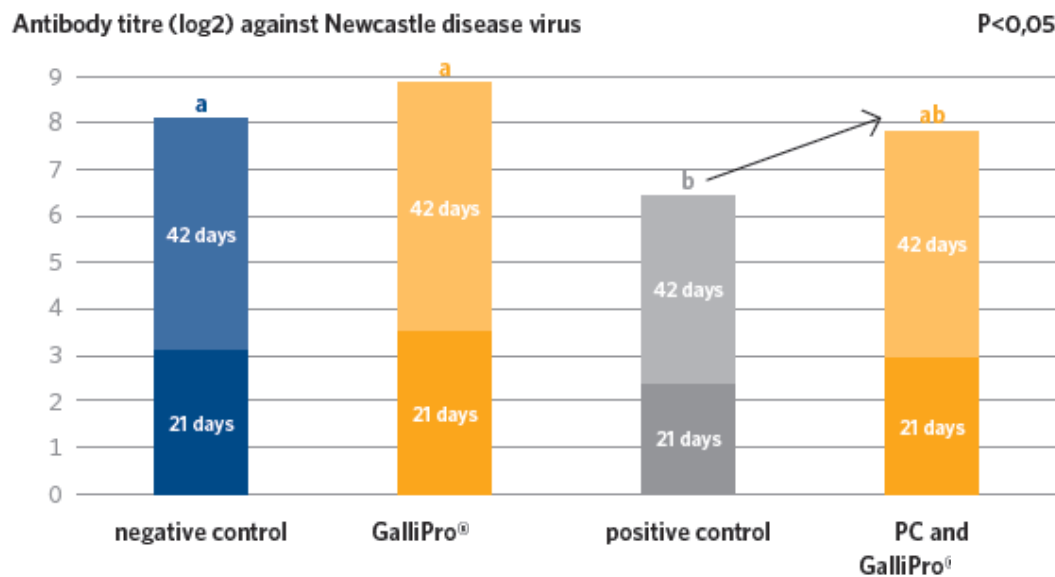
Inmunomodulación y *B. subtilis*

Referencia : Ali Asghar Sadeghi et al, 2014. Probiotic & antimicro.Prot. DOI 10.1007

Vacuna de Newcastle:

B1 : día 10, gota en ojo

Lasota : días 19 y 32 en agua de bebida



B.Subtilis (DSM 17299) tiene un efecto numérico sobre el título de anticuerpos cuando los pollos no han sido desafiados. Sin embargo, se observa un mayor efecto cuando los pollos han sido desafiados. El probiótico mejora la respuesta inmune en pollos infectados.

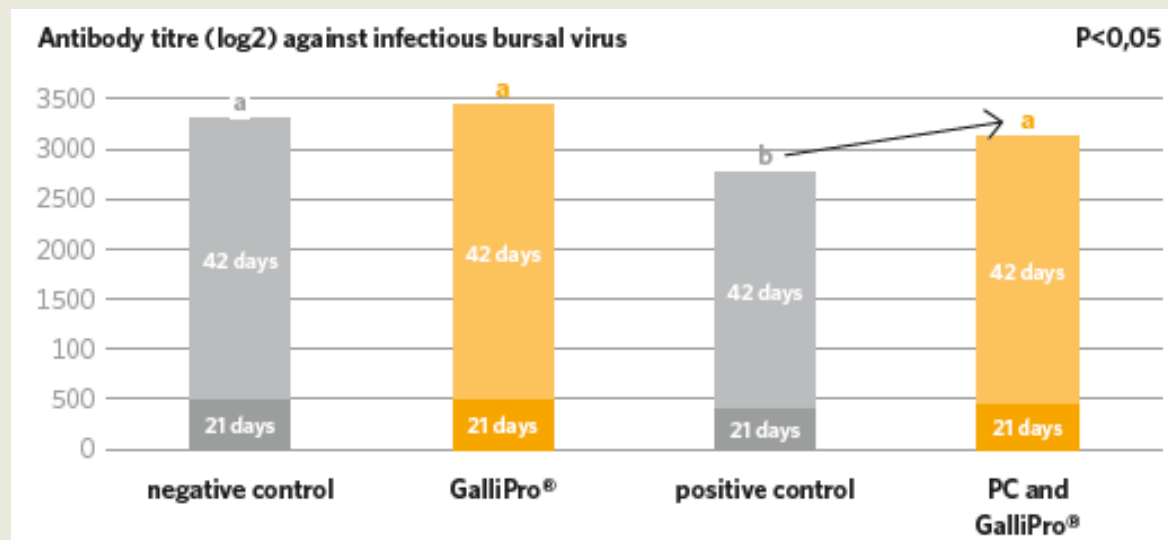


Inmunomodulación y *B. subtilis*

Referencia : Ali Asghar Sadeghi et al, 2014. Probiotic & antimicro.Prot. DOI 10.1007

Vacuna de Gumboro:

Gumboro D78 : días 12 y 24, gota en ojo



El probiótico no mostró ningún efecto sobre el título de anticuerpos en pollos sin desafío, sin darse ningún gasto extra de energía. Sin embargo, se observa una mayor eficacia en condiciones de desafío, cuando el sistema inmunológico de los pollos está deprimido.





[COMPARTIENDO LA VISIÓN]

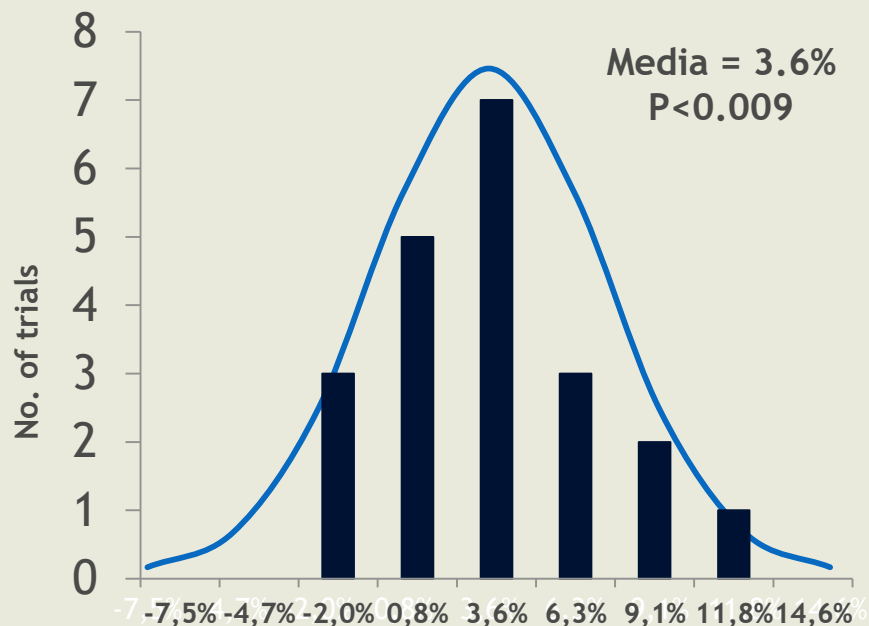
INDICE:

- ✓ La importancia de la microbiota intestinal
- ✓ Definición de probiótico
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: mecanismos de acción y especificidad
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en aves
- ✓ **Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en porcino**
- ✓ Conclusiones



Efecto de un probiótico* sobre la salud de lechones lactantes

- ▶ Meta-análisis de 21 pruebas experimentales con cerdas reproductoras, con un total de 21999 camadas con una media de 10.3 nacidos vivos/camada
- ▶ Mortalidad lechones:
 - ▼ Control 14.5%
 - ▼ Probiótico* 10.9%
- ▶ Se redujo la mortalidad en el 83% de las pruebas



Mejora de la viabilidad de lechones lactantes, %

- ▶ Ciertos probióticos* pueden mejorar la viabilidad de los lechones en un 3.6%

*: combinación of *B. licheniformis* & *B. subtilis*



Efecto de un probiótico* sobre la salud de lechones lactantes

- ▶ Los probióticos¹ mejoran la funcionalidad intestinal y reducen la necesidad de antibióticos

	Control	Probiótico ¹	Indice
Número de camadas	35	34	
Ganancia media diaria, g/d	204	220*	108
Consumo medio diario, g/d	8.8	12.0*	136
Lechones con heces líquidas, %	2.3	0.9*	39
Lechones tratados con antibióticos, %	44	21	48

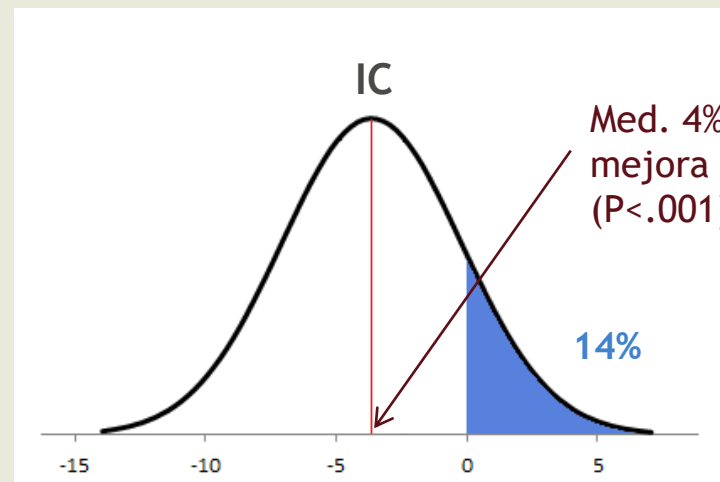
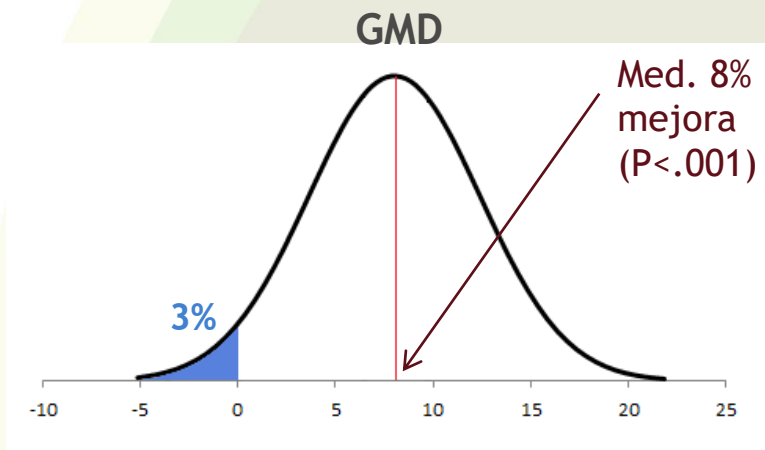
¹: *B. subtilis*; ²: destete el día 28; *:P<0.05

- ▶ Diseño
- ▶ 2 grupos experimentales: control & probiótico¹
- ▶ 35 camadas/grupo ~69 camadas en total
- ▶ Destete día 28; Pienso lacto-iniciador (Creep feed) desde el día 1
- ▶ Lacto-iniciador (harina)
- ▶ Copos de avena, trigo, cebada, harinilla de trigo, harina de pescado LT, concentrado de proteína de soja
- ▶ 19% proteína bruta, 1.4% lisina
- ▶ 2450 kcal/kg

Fuente: Tests & Trials, España, 2016. 80307



La suplementación de la dieta con un probiótico* mejora los rendimientos en lechones



Meta-análisis de 36 pruebas con un total de 10.000 lechones

El crecimiento y el IC mejoraron en el 97% y 86% de las pruebas, respectivamente
Ambos parámetros fueron mejorados en el 83% de las pruebas

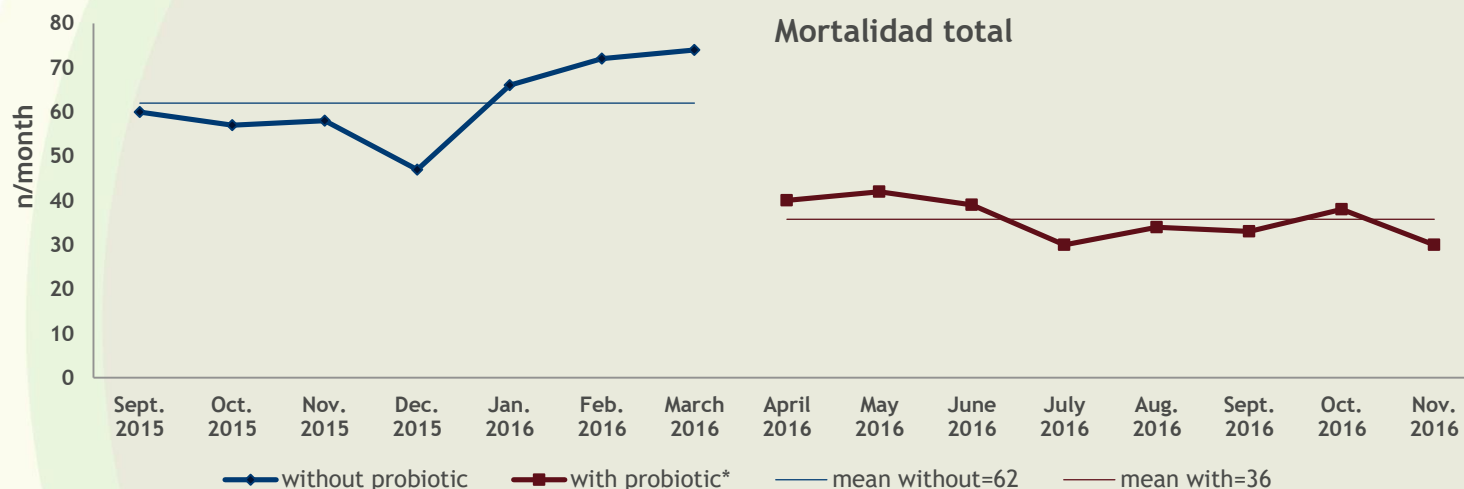
- ▶ En una revisión de >12.000 estudios, el uso de antibióticos mejoró el crecimiento y el IC un 72% de las veces

Rosen, G. D. (1995) in *Biotechnology in the Animal Feeds and Animal Feeding* (Wallace, R. J., and Chesson, A., Eds.), Vol. 8, pp.

*: combination of *B. licheniformis* & *B. subtilis*



Efecto de un probiótico* sobre la salud en cerdos de engorde



“Sólo ha podido ser el probiótico* la causa para una reducción del 42% en mortalidad y para una mejora del 5%-10% en rendimiento productivo”

El propietario

Probiótico*	SIN	CON	Indice
GMD, g/day	922	1016	110
IC, g/g	2.62	2.49	95

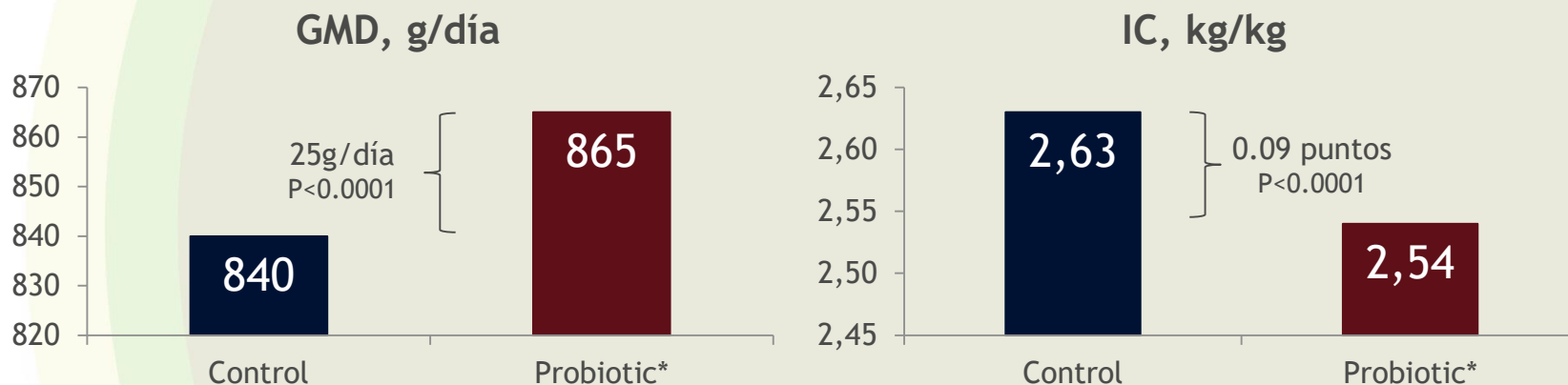
*: combination of *B. licheniformis* & *B. subtilis*

Fuente: observación en granja de 5000 plazas, Dinamarca (2015-2016). 80373



La suplementación de la dieta con un probiótico* mejora los rendimientos en el cebo (engorde)

▼ Meta-análisis de 8 pruebas en cebadero, con un total de 3590 cerdos ~ de 2013 a 2015

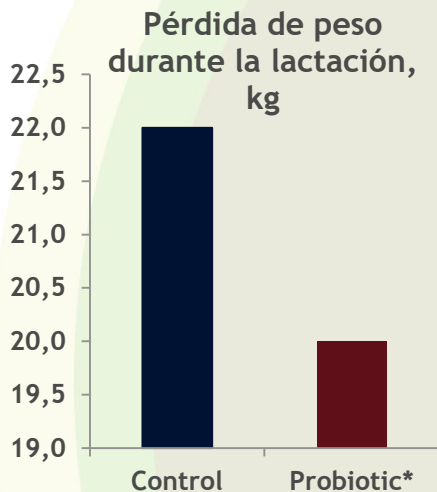


► El probiótico* mejoró los rendimientos productivos aproximadamente en un 3%

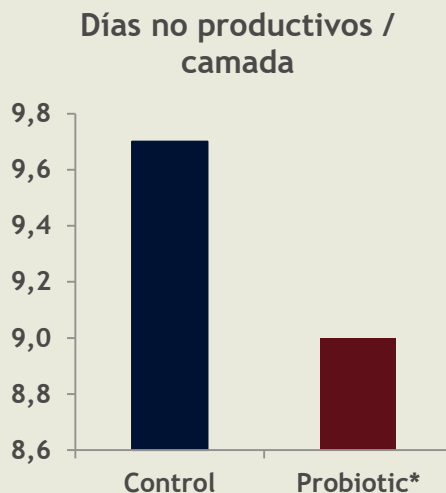
*: combinación de *B. licheniformis* & *B. subtilis*



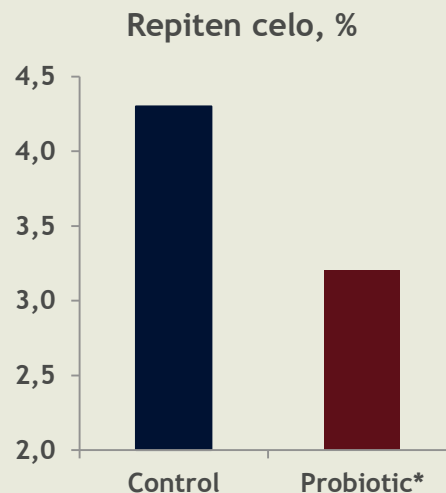
Mejora de los rendimientos en cerdas reproductoras por la adición de un probiótico* en la dieta



(meta-análisis de 5 pruebas con 521 cerdas)



(meta-análisis de 8 demostraciones en granja con un total de 12.907 sows)



La suplementación de la dieta con un probiótico*

- Mejora la condición corporal al final de la lactación
- reduce
 - El número de días no productivos
 - Reduce el número de cerdas que repiten celo

*: combinación de *B. licheniformis* & *B. subtilis*





[COMPARTIENDO LA VISIÓN]

INDICE:

- ✓ La importancia de la microbiota intestinal
- ✓ Definición de probiótico
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: mecanismos de acción y especificidad
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en aves
- ✓ Probióticos en base al género *Bacillus*: salud intestinal y nutrición en porcino
- ✓ Conclusiones



Conclusiones

- ✓ La microbiota intestinal juega un papel primordial en el bienestar, la salud y el rendimiento del animal hospedador.
- ✓ Existe un gran potencial de mejora de la salud y el rendimiento productivo de los animales a través de la manipulación de la microbiota intestinal mediante el uso de probióticos.
- ✓ Los probióticos a base de especies del género *Bacillus* muestran numerosos mecanismos de acción con diversos efectos en los animales: regulación de la microbiota intestinal, mejora de la digestibilidad (enzimas), modulación de la respuesta inmune.
- ✓ La eficacia de los probióticos a base de determinadas cepas de especies del género *Bacillus* en avicultura y porcicultura ha sido ampliamente demostrada en numerosos estudios científicos y pruebas en campo, tratándose de una herramienta costo-eficiente en los sistemas modernos de producción animal





Agradecimientos:

Sra. Florence Rudeaux

Sra. Lena Raff

Dr. Jens N. Jørgensen

(Chr. Hansen, Dinamarca)





***Muchas gracias por su
atención***

dkalbl@chr-hansen.com

