
EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE *Saccharomyces cerevisiae* EMPLEADO COMO PROBIOTICO SOBRE LA MORFOLOGÍA DE LA MUCOSA INTESTINAL EN CERDOS RECIÉN DESTETADOS.

Carmen Camacho.*¹, Kurt Spross¹, Rosa María Viguera², Pedro Pradal³, Marco Herradora³, Fernando Perez-Gil⁴, Miguel Arechavaleta⁵, Rafael Olea⁶.

¹Depto de Nutrición Aniaml. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M. ²Instituto Nacional de Pediatría. ³Depto. de Prodcción Porcina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M. ⁴Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubiran". ⁵Depto. de Genética y Bioestadística. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M. ⁶Centro de Enseñanzas, Investigación y Extensión en Producción Porcina F.M.V.Z.-U.N.A.M.

INTRODUCCION. Los probióticos son suplementos alimenticios (Lily y Stillwell 1965) pueden ser mono o mezcla de microorganismos viables, estabilizados y seleccionados por su capacidad de adhesión y reproducción en el intestino, (Necoechea y Márquez, 1987; Havenaar, *et al.*, 1992). Crean una simbiosis entre el huésped y el hospedador, manteniendo un balance de la flora intestinal indígena (Parker 1974; Fuller, 1989 Roques, *et al.*, 1994). Comercialmente los probióticos se clasifican en bacterias productoras de ácido láctico y en cultivos de levaduras principalmente de *Saccharomyces cerevisiae* (Necoechea y Márquez, 1987, Hoyos, 1997). Para que ésta levadura cumpla como probiótico debe ser seleccionada para nutrición animal, conservar su capacidad fermentativa (Lyons, 1987) y ser suplementada a una dosis mínima de 10^6 UFC/g. El efecto que tienen los probióticos sobre los parámetros productivos en cerdos ha sido evaluado sin embargo, no se ha estudiado con profundidad la influencia que puedan tener los probióticos sobre la integridad de la mucosa intestinal, en el periodo inmediato al destete en cerdos. Este periodo es un momento de particular vulnerabilidad a trastornos digestivos. Se ha observado que en el intestino delgado de lechones recién destetados sufre cambios en la arquitectura de la mucosa intestinal (Kelly, *et al.*, 1991a), observándose un aumento en la velocidad de división celular de las criptas intestinales, lo que da por resultado una hiperplasia, y una atrofia de vellosidades intestinales resultando en una reducción en la digestión y absorción de nutrimentos (Vega y Stokes, 1994).

OBJETIVO. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la posible influencia de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico sobre la integridad de las criptas, vellosidades intestinales.

JUSTIFICACION. El propósito de éste trabajo es evaluar el efecto de un cultivo de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico sobre la integridad de las vellosidades y criptas intestinales, ya que de ello depende una mayor absorción y digestión de nutrimentos.

MATERIAL Y METODOS El estudio se realizó en el Centro de Enseñanzas, Investigación y Extensión en Producción Porcina de la F.M.V.Z. de la U.N.A.M. localizada en Jilotepec, Edo de México. Se utilizaron 21 cerdos provenientes de 12 camadas, producto del cruzamiento terminal de las razas Landrace-Yorkshire. Cada camada se asignó aleatoriamente a uno de tres tratamientos. El primer tratamiento fue un grupo testigo, el segundo tratamiento fue una dieta suplementada con .15% de inclusión de un cultivo de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae*, y el tercer tratamiento tuvo .25% de inclusión. Las dietas no contuvieron ningún antibiótico o cualquier otro promotor de crecimiento. A los 5 días de edad los lechones recibieron las diferentes dietas. Se llevaron registros de mortalidad y presencia de diarreas. Los animales recibieron todas las medidas biosanitarias y de manejo que se realizan en la granja. Durante todo el experimento el consumo de agua y alimento fue a libre acceso empleándose dietas isoproteicas e isocalóricas, que cubrían los requerimientos nutricionales indicados para la etapa de iniciación, por el NRC (1988), el destete fue a los 21 días de edad.

Muestreo y estudio histológico. Se realizaron tres muestreos a los 5 días de edad, el segundo fue 4 días posdestete y el tercero a los 31 días de edad. Se seleccionaron aleatoriamente tres lechones por tratamiento se tomaron muestras de intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) de aproximadamente 5 cm para el estudio histológico. Las muestras se deshidrataron y se incluyeron en parafina, se realizaron cortes de 5 μm y se realizó la técnica de rutina de Hematoxilina-eosina. Se examinaron bajo un microscopio de luz (Olympus, modelo BH-12) equipado con una lente graduada donde se midió la altura de las 10 vellosidades con mejor integridad y la profundidad de las criptas adyacentes a cada una de ellas siguiendo el procedimiento descrito por Pekas (1986). Se utilizó el diseño estadístico Parcelas subdivididas aleatorizadas. Los datos se estudiaron mediante un Análisis de Varianza con un nivel de significancia $\alpha.05$, y una prueba de comparación de medias Tukey $\alpha.05$. La presencia de diarreas se analizó por medio de una J-cuadrada.

RESULTADOS El haber sacrificado animales antes de asignar los tratamientos permitió conocer que los animales sometidos a las diferentes dietas de iniciación se encontraban en condiciones histológicas similares (*cuadro 1*).

La altura de las vellosidades intestinales cuatro días posdestete se observan en el *cuadro 2*. Los animales que tuvieron acceso a una dieta suplementada con .15% de inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* presentaron vellosidades que midieron 263 μc , en el duodeno, los que tuvieron una inclusión de .25% midieron 240 μc y el grupo testigo presentó las vellosidades más cortas 178 μc sin embargo no fueron estadísticamente significativos ($p>.05$). A los 31 días de edad *cuadro 3* existió un aumento en el tamaño de las vellosidades del duodeno 238, 265 y 200 μc respectivamente. El yeyuno a los 24 días de edad no presentó la misma tendencia, la altura de las vellosidades del grupo control fueron de 219 μc , 200 para los animales suplementados con .15% de inclusión del probiótico y 269 μc para los que recibieron .25% de inclusión. La altura de las vellosidades a los 31 días de edad aumentó en los tres tratamientos, 255, 218 y 227 μc respectivamente, pero este aumento no fue estadísticamente significativo ($p>.05$). En el íleon el aumento en el tamaño de las vellosidades fue mayor en los animales suplementados con .15% de inclusión del probiótico, esta tendencia continuó hasta los 31 días ($p>.05$). En conjunto en los animales del tratamiento que recibieron .15% de inclusión del probiótico en la dieta mostraron vellosidades de mayor altura 248 μc mientras que los del grupo testigo presentaron vellosidades más cortas 202 μc a los 4 días posdestete, la misma tendencia permaneció para el día 31 de edad sin ser estadísticamente significativo.

La profundidad de la cripta tampoco se vio modificada por la inclusión del probiótico en dietas de iniciación (*cuadro 2*). Sin embargo a los 4 días posdestete la profundidad de la cripta fue menor comparada con los animales sacrificados a los 11 días de posdestete (*cuadro 3*), siendo el duodeno la sección que presentó una mayor profundidad 189 y 264 μc para el grupo control, 265 μc y 341 μc en el tratamiento con .15% de inclusión del probiótico y 192 y 222 μc para el grupo que recibió la mayor inclusión del probiótico. (*cuadro 2*). El tiempo de muestreo presentó una diferencia estadística significativa ($p<.004$) existiendo una mayor profundidad de la cripta a los 31 días de edad en comparación con los animales que tenían 24 días de edad.

La inclusión de la levadura disminuyó la presencia de diarreas, del total de estas, 43% se presentaron en el grupo control y 28% en los animales que recibieron los diferentes niveles de inclusión del probiótico.

Cuadro 1 Largo de vellosidades y criptas intestinales de lechones en maternidad y antes de asignar los tratamientos.

	Intestino	μ C		Intestino	μ C
Largo de vellosidad	duodeno	637	Profundidad de la cripta	duodeno	87
	yeyuno	779		yeyuno	45
	íleon	709		íleon	54
	media	708		media	62

Cuadro 2. Largo de la vellosidad y profundidad de la cripta en ce.dos días posdestete

Cuadro 3. Largo de la vellosidad y profundidad de la cripta en cerdos 11 días posdestete ($p < .004$)

Tratamientos						Tratamientos					
	Intestino	μ C	μ C	μ C	p	Intestino	μ C	μ C	μ C	p	
		0%	15%	.25%			0%	.15%	.25%		
Largo de vellosidad	duodeno	178	263	240	P=.997	duodeno	200	238	265	P=.997	
	yeyuno	219	200	269	P=.999	yeyuno	255	218	227	P=.997	
	íleon	209	281	181	P=.997	íleon	204	272	229	P=.997	
	media	202	248	230		media	219	243	240		
Profundidad de la cripta	duodeno	189	265	192	p=.055	duodeno	264	341	222	p=.055	
	yeyuno	159	192	166	p=.055	yeyuno	234	255	247	p=.055	
	íleon	184	185	172	p=.055	íleon	215	210	197	p=.0555	
	media	177	214	176		media	238	269	222		

DISCUSION. Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que el empleo de cultivos de levadura de *Saccharomyces cerevisiae* empleado como probiótico no tuvo efecto significativo ($p > .05$) sobre la integridad de la vellosidad intestinal en cerdos recién destetados, presentándose la disminución en el tamaño de las vellosidades intestinales que comúnmente se observan al destete. Sin embargo los animales del grupo testigo presentaron una mayor reducción en el tamaño de las vellosidades intestinales en comparación con los cerdos que recibieron las diferentes dietas con el probiótico, lo que sugiere que el cultivo de levaduras tuvo un efecto sobre la integridad de la mucosa intestinal aunque no estadísticamente significativo. Este efecto posiblemente sea resultado de una interacción directa o indirecta con la microflora intestinal indígena o sea, una consecuencia del producto de sus metabolitos. La reducción en el tamaño de las vellosidades en conjunto fue mayor a los 4 días posdestete con respecto a los 11 días posdestete, lo mismo ocurrió en la profundidad de la cripta la cual fue menor. Estos cambios concuerdan con Hall y Byrne (1989) quienes demostraron que la disminución en el tamaño de la vellosidad intestinal en los primeros días posdestete se debe a una disminución en la producción de enterocitos en las criptas más que aun aumento en la producción celular en las criptas como consecuencia de una mayor demanda en la vellosidad. Esto es posible debido a que existe una disminución en el consumo de alimento al destete que trae como consecuencia un deficiente aporte de nutrimentos resultando en una disminución en la mitosis celular en las criptas intestinales. Syme (1982). demostró que una deficiencia de proteína en la dieta provoca una reducción en la división celular a nivel de criptas intestinales. Sin embargo a los 31 días de edad el aumento en la altura de las vellosidades intestinales y en la profundidad de la cripta sugiere que el cerdo ha pasado por un estado de adaptación al destete y en este momento realmente el aumento en la profundidad de la cripta posiblemente sea debido a un incremento en la producción de enterocitos. A pesar de que la información obtenida en el presente trabajo no fue estadísticamente significativa, el aumento en la altura de las vellosidades intestinales de los animales que fueron suplementados con diferentes inclusiones de *Saccharomices cerevisiae* hace suponer que posiblemente este teniendo un efecto que las favorece. Sería conveniente realizar

posteriores estudios en los que se evalúe la microflora intestinal con la finalidad de determinar el efecto que tiene el probiótico sobre los microbiota intestinal indígena. Se han realizado investigaciones sobre el efecto que tienen los probióticos sobre la flora intestinal sin embargo en la mayoría de trabajos se han evaluado bacterias lácticas, las cuales en su mayoría son microflora indígena. *Saccharomyces cerevisiae* no pertenecen a la microflora intestinal motivo por el cual su mecanismo de acción puede ser diferente, posiblemente el efecto que tenga sea resultado de la presencia de la levadura en el lumen intestinal así como a la producción de sus metabolitos los cuales podrían servir de nutrientes para el desarrollo de un tipo de bacterias deseables en el tracto gastrointestinal las cuales podrían ser las que realmente favorezcan a la vellosidad intestinal. El empleo de levaduras así como otros probióticos ha demostrado que reduce la presencia de diarreas lo cual concuerda con este trabajo esta disminución en la presencia de diarreas puede ser resultado de una modificación en la microflora intestinal la cual no permita que se desarrollen microorganismos patógenos o se deba a la activación de células inmunocompetentes en la lamina propia del intestino creando inmunidad inespecífica contra infecciones intestinales.

En resumen los tratamientos de los cerdos con el probiótico no causaron cambios significativos ($p > .05$) en la estructura de la mucosa intestinal. Sin embargo las animales que recibieron .15% de inclusión mostraron en conjunto las vellosidades más largas. Es necesario realizar más estudios del mecanismo de acción de la levadura, evaluar si soporta las barreras fisiológicas del organismo y determinar si modifica la microflora intestinal.

BIBLIOGRAFIA

1. Fuller R. 1989. Probiotic in man and animals. *J. Appl. Bact*; 66: 365-378.
2. Havenaar, R., and Huis in Veld, H. J. 1992. Probiotics: A general view. The lactic acid bacteria in health and disease . Edited by Bran J.B. Wood. Elsevier Applied science. London, pp. 151-163.
3. Kelly, D., Smyth, J. A. and MacCracken, K. J.: Digestive development of the early-weaned pig. 1991. 1. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. *Brit. J. Nutr.*, 65: 69-180.
4. Hoyos, G. 1997. Aplicación de la biotecnología en la producción animal: La experiencia mexicana de una década. 1^{er} Simposio Mexicano sobre Probióticos. Ciudad Universitaria. México, D.F. pp.131-148.
5. Lily, D. M., and Stillwel, R. H. 1965. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*. 147.
6. Lyons, T. P. 1987. The role of biological tools in the feed industry. *Proceedings of Alltech's Third Annual Symposium*.
7. Necochea, R. R. y Márquez, M. L. 1987. Manual de aditivos suplementos para la alimentación animal. 2da. ed. Manual Agropecuario. México, D.F. pp. 9-100.
8. Pekas, J. 1986. Morphometry of the intestine of pig. II Circumsection response to feeding schedules. *Digest. Disea.Sci.*, 31:(1), 90-96.
9. Roquess, C., Dussert, L. And Tourmut, J. 1994. *Saccharomyces cerevisiae* Sc 47 as a growth promotor for the swine: Importance of dosage in the feed for optimal efficiency. (I. P. V. S.) *Proceedings: The 13th International Pig Veterinary Society Congress*, Bangkok, Thailand. 23-26 June p. 296.