EFICACIA DE LA COMBINACIÓN SIMBIÓTICA DE *BIFIDOBACTERIUM LONGUM SUBSP. INFANTIS* CECT7210 Y UN PREBIÓTICO DE INULINA Y FOS FRENTE A *SALMONELLA TYPHIMURIUM* EN UN MODELO DE LECHÓN RECIÉN DESTETADO

Rodríguez-Sorrento[1], A., Castillejos[1], L., Lopez[1], P., Rivero Urgell[2], M., Moreno[2], J.A. y Martín-Orúe[1], S.M.
[1]Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España. agustina.rodriguez@uab.cat
[2]Laboratorios Ordesa S. L., Parc Científic de Barcelona, C/Baldiri Reixac 15-21, 08028 Barcelona, España.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un interés creciente en el uso de probióticos y prebióticos, tanto en el ámbito de la nutrición humana como animal. La prohibición, por parte de la Unión Europea, del uso de antibióticos como promotores de crecimiento (Eur-Lex, 2003) ha hecho que su estudio adquiera especial importancia.

Bifidobacterium longum subsp. *infantis* CECT 7210 es una cepa probiótica con una alta resistencia a los jugos gastrointestinales, sales biliares y bajos pH y con una gran capacidad de adhesión al mucus intestinal, que ha demostrado en ratas capacidad para prevenir la infección por Rotavirus (Moreno *et al*., 2011) y en lechones reducir la colonización intestinal de ETEC y *Salmonella* (Barba-Vidal, 2016).

Por otra parte, el uso de inulina y oligofructanos como componentes prebióticos en la dieta se ha demostrado como un sustrato capaz de favorecer el crecimiento de bifidobacterias (Rossi *et al*., 2005), mientras que otras de carácter patógeno como *Salmonella* se ven negativamente afectadas (Glenn *et al*., 1995).

Teniendo en cuenta lo explicado anteriormente, podría resultar interesante la administración conjunta de la cepa mencionada de *B. infantis* con fructooligosacaridos derivando en lo que se conoce como simbiótico.

No obstante, existen pocos estudios al respecto. El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la eficacia de la adición de un prebiótico compuesto por inulina y oligofructosa al probiótico *Bifidobacterium longum* subsp. i*nfantis* CETC7210 (Laboratorios Ordesa S.L.) frente a *Salmonella* Typhimurium utilizando un modelo experimental de lechón destetado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 72 lechones machos Landrace x Large White de 28 días (7,7±1,60 kg), distribuidos en 24 corrales en un diseño 2x2: con o sin simbiótico, e inoculados o no con el patógeno. Los animales recibieron una dieta base (CTR) o la misma dieta suplementada con el prebiótico (5%) (SIM). Los animales de la dieta SIM recibieron también el probiótico vía oral (10^9 UFC/animal*día) y los del CTR una solución de maltodextrina (placebo del probiótico). Tras una semana de adaptación, los lechones se inocularon oralmente con *Salmonella Typhimurium* (10^8 UFC), mientras que a los no infectados se les administró agua de peptona estéril (AP). 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, contenido digestivo y tejidos fijados en formol. Se realizaron recuentos de *Salmonella*, TNF- α (proteína del grupo de las citoquinas liberadas por las células del sistema inmunitario que interviene en la inflamación, la apoptosis y otras patologías) y PigMAP (principal proteína de fase aguda en el cerdo, de acción antiinflamatoria) en suero e histomorfometría ileal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inoculación produjo un cuadro clínico leve con un empeoramiento de la consistencia fecal (*P<0,01*) y fiebre (*P<0,01*) con un descenso en los parámetros productivos disminuyendo el consumo medio diario (CMD) (*P=0,01*) y la ganancia media diaria (GMD) (*P=0,02*).

No se observaron diferencias significativas en la GMD o CMD entre tratamientos CTR y SIM, aunque las ganancias de peso tras la inoculación fueron numéricamente más altas en los animales desafiados que recibieron SIM (85 y 109 g/d para CTR y SIM), mientras que en los que no recibieron el patógeno el comportamiento fue el contrario (250 y 166 g/d para CTR y SIM, respectivamente) (P interacción = 0,25).
En cuanto a su efecto sobre el patógeno el tratamiento simbiótico (SIM) redujo numéricamente los recuentos de *Salmonella* en heces a día 1 PI (*P=0,14*) y en el contenido cecal a día 8 PI (*P=0,15*) (Figura 1).

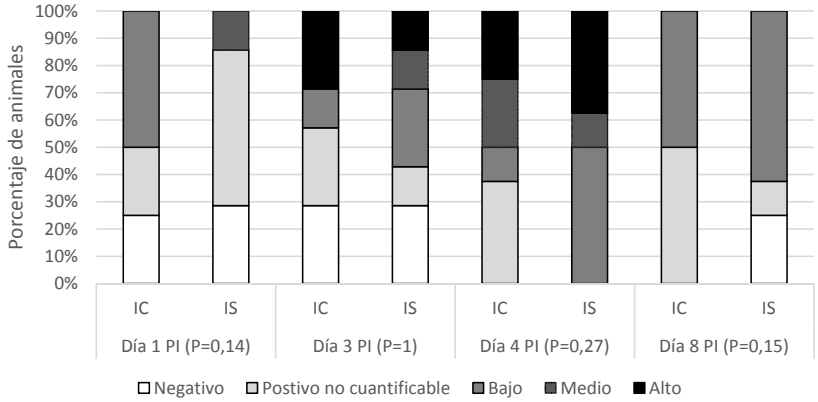


***Figura 1**. Niveles de excreción de Salmonella los días 1 y 3 (heces) y 4 y 8 (ciego) post-inoculación (PI) (% animales analizados). IC- Animales inoculados con Salmonella recibiendo placebo; IS- Animales inoculados con Salmonella recibiendo simbiótico. Niveles: Negativo (0-10 UFC/g), Positivo no cuantificable (10-10^2 UFC/g), Bajo (10^3-10^4 UFC/g), Medio (10^5-10^6 UFC/g), Alto (10^7-10^8 UFC/g). P-valores calculados con el test de Fisher (n=24).*

Histomorfológicamente (Tabla 1), el efecto de la enteritis generada por *Salmonella* se pudo apreciar a nivel ileal en una reducción de la altura de las vellosidades (*P<0,01* a día 4 PI) y en un aumento de la profundidad de criptas (*P=0,01* y *P=0,04* para los días 4 y 8 PI). Sin embargo, estos parámetros no respondieron a la estrategia simbiótica.

***Tabla 1**. Efectos de los tratamientos en los parámetros histomorfológicos en los días 4 y 8 post-inoculación*

	Día	Tratamiento					P-valor		
		IC	IS	NIC	NIS	RSD	Inoculación	Simbiótico	Interacción
Longitud vellosidades (µm)	**4**	128,5	149,3	230,5	228,3	50,46	<0,001*	0,532	0,604
	8	215,4	202,8	227,8	270,0	44,70	0,061	0,716	0,150
Profundidad criptas (µm)	**4**	290,4	313,9	240,3	277,8	24,46	0,013*	0,076	0,665
	8	327,0	327,4	282,8	296,5	40,12	0,042*	0,769	0,705
LIE (Nº cel/ 100 µm)	**4**	1,22	1,28	1,19	0,69	0,636	0,276	0,626	0,320
	8	1,01	1,41	1,14	1,53	0,443	0,510	0,039*	0,994
Mitosis (Nº cel/ 100 µm)	**4**	0,90	0,93	0,60	0,85	0,136	0,171	0,598	0,310
	8	0,84	0,59	0,63	0,60	0,408	0,142	0,008*	0,094

IC- Animales inoculados con Salmonella recibiendo placebo; IS- Animales inoculados con Salmonella recibiendo simbiótico; NIC- Animales inoculados con AP estéril recibiendo placebo; NIS- Animales inoculados con AP estéril recibiendo simbiótico.
LIE= linfocitos intraepiteliales en vellosidades/100 µm; Mitosis= Mitosis en criptas/100 µm.

El tratamiento SIM incrementó el número de linfocitos intraepiteliales (LIE) (*P=0,03*) y redujo el índice de mitosis (*P<0,01*) a día 8 PI con una tendencia a la interacción (*P=0,09*) siendo la reducción más manifiesta en los lechones infectados con un valor muy parecido al de los animales no desafiados. El incremento en los LIE observados en ambos grupos podría deberse a una repuesta del epitelio a la adhesión de *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CETC7210 como se ha observado con otros probióticos (Rieger *et al*., 2015). La reducción en el número de mitosis con el simbiótico sugiere que los animales recibiendo este tratamiento podrían haber sufrido un menor daño a nivel de las vellosidades intestinales, ya que estas se producen para regenerar las células del tejido dañado.
Los resultados sugieren que la combinación simbiótica de inulina y oligofructosa con *Bifidobacterium longum* subsp*. infantis* CETC7210 puede ayudar a estimular la respuesta inmunitaria del lechón y disminuir los daños en las vellosidades intestinales causados por *Salmonella* Typhimurium.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Barba-Vidal, E. 2016. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona • Glenn, R. *et al*. 1995. Gastroenterology 108:975-982 • Moreno, J.A. *et al*. 2011. Appl Environ Microbiol. 77(24):8775-83 • Rieger, J. *et al*. 2015. Vet Immunol Immunopathol. 164(1-2):40-50 • Rossi, M. 2005. Appl Environ Microbiol. 71(10):6150-8 • Official Journal of the European Union. L 268. • Reglamento (CE) No 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo

Agradecimientos: Financiado por Laboratorios Ordesa S.L. El presente trabajo forma parte del proyecto “SMARTFOODS” (Programa CIEN) concedido por el CDTI.

EFFICACY OF A SYNBIOTIC COMPOUND OF *BIFIDOBACTERIUM LONGUM SUBSP. INFANTIS* CECT7210 AND A INULIN AND FOS PREBIOTIC AGAINST *SALMONELLA TYPHIMURIUM* IN A WEANED PIGLET MODEL

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the efficacy of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* C7210 (Laboratorios Ordesa S.L.) administered jointly with inulin and oligofructose against a *Salmonella* Typhimurium challenge in weanlings. A total of 72 4-week-old piglets (7.7±1.60 kg) were evenly distributed into 24 pens and 4 experimental groups in a 2x2 design: with and without synbiotic and orally challenged or not with *Salmonella*. Animal received a plain diet (CTR) or the same diet supplemented with the prebiotic (5%) plus a daily oral administration of the probiotic (10^9 CFU) (SYN). After one week adaptation, 48 animals were orally challenged with *Salmonella* Typhimurium (10^8 CFU) and rectal temperature 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, colonic content and ileal tissues were taken.
Results showed that animals receiving SYN reduced numerically (P≤0.15) the excretion of *Salmonella* on days 1 and 8 PI. Histologically, these piglets had more intraepithelial lymphocytes (P<0.05) and less mitotic cells (P<0.01) at ileal mucosa, which indicates that this treatment could help to stimulate immune response and to decrease intestinal damage caused by *Salmonella*.

Keywords*:* synbiotic, *Salmonella,* inulin, *Bifidobaterium.*