







Efecto del probiótico (*Saccharomyces cerevisiae* variedad *boulardii* RC009) sobre los parámetros bioquímicos en monogástricos

Effect of the probiotic (*Saccharomyces cerevisiae* variety *boulardii* RC009) on biochemical parameters in monogastric

ARK CAICYT: <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s26182734/9jkg6oqwa>

Alejandra Paola Magnoli^{1,2*} ; María Eugenia Ortiz¹ ; María Valeria Coniglio¹ ;
Santiago Watson¹ ; Valeria Poloni^{2,3} ; Lilia Cavaglieri² 

1-Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria Universidad Nacional de Río Cuarto.

2- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

3- Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas Físico Químicas y Naturales Universidad Nacional de Río Cuarto.

RESUMEN. Se define como probiótico a todo “microorganismo vivo” que cuando es administrado en cantidades adecuadas confiere un beneficio para la salud del huésped. Una parte importante de la salud animal deriva del intestino; se sabe que un “intestino sano” es crucial para la fisiología y el bienestar del huésped. Por lo tanto, complementar la dieta con probióticos parece ser una forma de ayudar a mantener y promover la salud óptima del tracto gastrointestinal y el bienestar de los animales. Uno de los tantos mecanismos de los probióticos es la reducción del colesterol sérico. Diferentes fuentes bibliográficas demuestran el efecto benéfico del uso de probióticos (bacterias) sobre los niveles del colesterol en cerdos y mascotas. Sin embargo, no hay trabajos en la literatura que muestren estos efectos sobre los niveles del colesterol utilizando levaduras como probióticos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de una levadura probiótico *Saccharomyces cerevisiae* variedad *boulardii* RC009 (*S. boulardii* RC009) autóctona del ecosistema animal de cerdos, sobre los parámetros bioquímicos de monogástricos (cerdos y perros).

Los resultados de estos estudios demostraron que la levadura probiótico (*S. boulardii* RC009) autóctona de cerdos fue capaz de influir positiva y significativamente sobre los parámetros bioquímicos específicamente sobre los niveles de colesterol séricos en monogástricos, cerdos y perros. Cabe destacar que a pesar de no ser una cepa autóctona en el caso de mascotas también fue capaz de ejercer un efecto benéfico en la variable estudiada.

PALABRAS CLAVES: probióticos, cerdos, mascotas, colesterol

Artículo recibido: 10 de diciembre de 2021. Artículo aceptado: 24 de mayo de 2022.

*Autor para correspondencia: Alejandra Paola Magnoli. Ruta Nacional 36, Km. 601, 5804 Río Cuarto, Córdoba, Argentina; E MAIL amagnoli@ayv.unrc.edu.ar

ABSTRACT: probiotic is defined as any “living microorganism” that when administered in adequate amounts, confers a benefit to the health of the host. An important part of animal health derives from the intestine; a “healthy gut” is known to be crucial to the physiology and well-being of the host. Therefore, supplementing the diet with probiotics appears to be one way to help maintain and promote optimal gastrointestinal tract health and animal welfare. One of the many mechanisms of probiotics is the reduction of serum cholesterol. Different bibliographic sources demonstrate the beneficial effect of the use of probiotics (bacteria) on cholesterol levels in pigs and pets. However, there are no works in the literature that show these effects on cholesterol levels using yeast as probiotics. The objective of this study was to evaluate the effect of the inclusion of a probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* variety *boulardii* RC009 (*S. boulardii* RC009) native to the pig animal ecosystem, on the biochemical parameters of monogastrics (pigs and dogs). The results of these studies demonstrated that probiotic yeast (*S. boulardii* RC009) native to pigs was able to positively and significantly influence biochemical parameters specifically on serum cholesterol levels in monogastrics, pigs and dogs. It should be noted that despite not being an autochthonous strain in the case of pets, it was also capable of exerting a beneficial effect on the variable studied.

KEYWORDS: probiotics, pigs, pets, cholesterol

En los últimos años la sociedad ha experimentado grandes cambios, siendo cada vez más exigente con todo aquello relacionado con su salud, por tanto, también más decisivo en cuanto a los alimentos que consume. Los cambios normativos están también dirigiendo la producción animal hacia un modelo productivo más sostenible sanitariamente, potenciando las empresas con mejores medidas de manejo y bioseguridad, menor uso de antibióticos y mejor índice de bienestar animal (Grześkowiak et al., 2015).

Actualmente, en el mercado existe gran variedad de productos que pueden ser usados en el alimento como parte de una estrategia global, pero hay que tener presente que el principal objetivo debe ser el cuidado del intestino y la microbiota que reside en él, pues es el órgano inmunitario más importante (NutriNews, 2021). Los probióticos se utilizan en alimentación animal desde hace décadas, pero son los retos actuales los que hacen más interesante y necesario el uso de estos aditivos (Grześkowiak et al., 2015). Tanto en la producción animal como en mascotas, los probióticos han ganado popularidad ya que la ciencia proporciona los primeros productos con eficacia probada. La composición nutricional de los alimentos influye significativamente en la función gastrointestinal, la composición de la microbiota y sus productos metabólicos en el intestino. Una parte importante de la salud animal deriva del intestino; se sabe que un “intestino sano” es cru-

cial para la fisiología y el bienestar del huésped. El tracto gastrointestinal (TGI) alberga comunidades microbianas complejas. Este ecosistema microbiano actúa de varias maneras, afectando tanto la absorción como el metabolismo de los nutrientes, las funciones tróficas y protectoras del huésped. Cualquier perturbación de la microbiota intestinal puede conducir al desarrollo de una multitud de enfermedades y trastornos como diarrea, alergias, obesidad y síntomas de estrés (Silva et al., 2013). Por lo tanto, complementar la dieta con probióticos parece ser una forma de ayudar a mantener y promover la salud óptima del tracto gastrointestinal y el bienestar de los animales (Hill et al., 2014). Se define como probiótico a todo microorganismo vivo que cuando es administrado en cantidades adecuadas confiere un beneficio para la salud del huésped (FAO/WHO 2002). Entre los microorganismos probióticos encontramos levaduras y bacterias vivas, el modo de acción será diferente según la especie (Grześkowiak et al., 2015). De forma general podemos considerar que su acción frente a patógenos está relacionada con la competencia por nutrientes, y por el sitio de adhesión en el epitelio intestinal, la producción de ciertos compuestos antibacterianos, la modificación del ambiente intestinal, y la acción inmunomoduladora, además, ayudan en el mantenimiento del estrés, aumento del crecimiento y desarrollo; Mientras que, en mascotas ayudan en el control de los trastornos alérgicos, protegen de las infecciones producidas por enteropatógenos,

modulan el sistema inmunológico y la obesidad, ya que los probióticos son capaces de cambiar la síntesis de ácidos biliares obteniendo beneficios para la salud como la reducción del colesterol (Walker, 2008; Sarowska et al., 2013). Se ha sugerido que los probióticos reducen el colesterol a través de varios mecanismos, uno de ellos incluye la desconjugación enzimática de los ácidos biliares mediante las hidrolasas de los probióticos. La bilis, un producto final soluble en agua del colesterol en el hígado, se almacena y se concentra en la vesícula biliar y se libera en el duodeno tras la ingestión de alimentos (Begley et al., 2006; Ooi y Liong 2010). Una vez desconjugados, los ácidos biliares son menos solubles y absorbidos por los intestinos, lo que lleva a su eliminación en las heces (Jones et al., 2004). El colesterol se utiliza para sintetizar nuevos ácidos biliares en una respuesta homeostática, lo que resulta en una reducción del colesterol sérico (Begley et al., 2006). El efecto hipocolesterolémico de los probióticos también se ha atribuido a su capacidad para unirse al colesterol en el intestino delgado (Begley et al., 2006). Diferentes fuentes bibliográficas demuestran el efecto benéfico del uso de probióticos (bacterias) sobre los niveles del colesterol en cerdos y mascotas (Grześkowiak et al., 2015; Kim et al., 2021).

Considerando el uso de probióticos en monogástricos, la utilización de una mezcla de *Lactobacillus* adicionada a dietas de cerdos mejoró la función hepática y redujo los niveles de colesterol (Kim et al., 2021). Joysowal et al. (2018) demostraron, que la adición de *Pediococcus acidilactici* FT28 en cerdo fue capaz de reducir la concentración sérica de triglicéridos y colesterol. Además, Dowarah et al. (2017) demostraron que los niveles de triglicéridos séricos y de colesterol fueron menores en los cerdos alimentados con *Lactobacillus acidophilus* NCDC15 y *Pediococcus acidilactici* FT28.

En el caso de monogástricos, mascotas, algunos autores consideran que para que el uso de probióticos sea exitoso, las especies microbianas deben ser de origen intestinal del huésped. Sin embargo, la mayoría de los probióticos para mascotas no son originalmente derivados de la microbiota canina, a pesar que el intestino de los perros es rico en microorganismos potencialmente probióticos (Christensen et al., 2002; Marcinakova et al., 2006). Se ha demostrado que la utilización de una cepa de origen canino como *Enterococcus faecium* fue capaz de reducir los lípidos, las proteínas totales y el colesterol séricos (Marcinakova et al., 2006). *Lactobacillus fer-*

mentum, cepa de origen canino, fue capaz de aumentar los niveles séricos de proteína total y lípidos totales y reducir la glucosa en el suero (Strompfova et al., 2006). O'Mahony et al., 2009, demostraron que una cepa de origen canino como *Bifidobacterium animalis* fue capaz de aumentar los niveles de ácidos orgánicos en heces y reducir los niveles de triglicéridos y albúmina sanguínea. La literatura ha demostrado la eficacia del uso de los probióticos compuestos por bacterias como *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* y *Pediococcus*. Sin embargo, no hay trabajos en la literatura que muestren estos efectos utilizando levaduras como probióticos.

De acuerdo a lo expuesto con anterioridad, surge el objetivo de este trabajo, evaluar el efecto de la inclusión de una levadura probiótica *Saccharomyces cerevisiae* variedad *boulardii* RC009 autóctona del ecosistema animal de cerdos, sobre los parámetros bioquímicos en monogástricos (cerdos y perros).

El primer estudio que se llevó a cabo fue realizado en cerdos en un criadero modelo de ciclo completo ubicado en Carnerillo, departamento de Juárez Celman. Para ello se utilizaron 80 cerdos destetados a los 21 días de edad (Agrocere PIC), 4 réplicas por tratamiento, 2 tratamientos con 10 cerdos por réplica (20 machos y 20 hembras) fueron alojados en salas confinadas, caravaneados y separados por similitud de peso y sexo, alimentados *ad libitum* de acuerdo al esquema nutricional de la granja. Se asignaron los siguientes tratamientos: T1: Dieta control (DC); T2: DC + *S. boulardii* RC009 (1×10^9 UFC/kg de alimento) aplicados durante la etapa de recría (21 hasta 56 días de edad), el periodo experimental fue de 35 días. *Saccharomyces boulardii* RC009 fue previamente aislada de alimento de cerdos y caracterizada molecularmente por Armando et al. (2011). Se mezclaron 100 g de *S. boulardii* RC009 por tonelada de dieta correspondiente a las diferentes fases de crecimiento. A los 56 días de edad se tomaron muestras de sangre a través de la vena cava superior en tubos con heparina de 20 animales de cada tratamiento (10 machos y 10 hembras), las muestras fueron transportadas y entregadas al laboratorio para la determinación bioquímica del colesterol sérico. El análisis bioquímico de los niveles de colesterol sérico mostraron una reducción altamente significativa del mismo ($p \leq 0,0001$) con la aplicación de la levadura como probiótico. Como puede observarse en Tabla 1 los niveles de colesterol sérico de los animales tratados con el probiótico presentaron una reducción aproximada del 78% comparado con los animales controles.

Tabla 1. Bioquímica sanguínea en cerdos tratados con levadura como probiótico

Tratamiento	Colesterol (mg/dl)	Valores de referencia (mg/dl)
1	70,48 ± 9,64 ^b	81 - 134
2	55,11 ± 6,04	

T1: Dieta control (DC); T2: DC + *S. boulardii* RC009 (1 x 10⁹ UFC/kg de alimento)

^b Los valores dentro de las columnas con letras distintas son diferentes significativamente ($p \leq 0,0001$), de acuerdo al test de la mínima diferencia significativa (LSD) Fisher; $n=40$.

Nuestros resultados están parcialmente de acuerdo con Kim et al. (2021) quienes demostraron una mejora en la función hepática y reducción de los niveles de colesterol cuando utilizaron una mezcla de bacterias lácticas como probiótico, *Lactobacillus* (*L. buchneri* NLRI-1201, a una concentración de $1,2 \times 10^8$ UFC/g; *Lactobacillus plantarum* NLRI-101; a una concentración $1,6 \times 10^8$ UFC /g; y *Lactobacillus casei* DK128; a una concentración de $1,4 \times 10^8$ UFC /g) adicionada a la dieta de cerdos durante 3 meses. Joysowal et al., 2018 demostraron que la adición de *Pediococcus acidilactici* FT28 en cerdo fue capaz de reducir la concentración sérica de triglicéridos y colesterol. Además, Dowarah et al. (2018) demostraron que los niveles de triglicéridos séricos y de colesterol (LDL y HDL) fueron menores en los cerdos alimentados con una mezcla de *Lactobacillus acidophilus* NCDC15 (10⁹ UFC/ml) y *Pediococcus acidilactici* FT28 vivo (10⁹ UFC/ml).

Por otro lado, se realizó un estudio en mascotas, específicamente en perros, se utilizó la misma levadura que en el ensayo anterior (*S. boulardii* RC009) donde se evaluó el efecto de la inclusión de la levadura sobre los parámetros bioquímicos en perros adultos. Este estudio se llevó a cabo en la ciudad de Rio Cuarto, en el criadero de ovejeros alemanes "VON JOPE". Para ello se utilizaron 4 perros adultos de raza ovejero alemán (2 machos y 2 hembras), de edades similares, sanos, vacunados y desparasitados, alojados en caniles individuales. Los tratamientos aplicados fueron los siguientes: T1: Dieta Control (DC); T2: DC + *S. boulardii* RC009 (1 x 10⁹ UFC/ kg de alimento), la levadura fue incorporada durante el proceso de elaboración del alimento. El alimento control fue alimento extrusado comercial (Premium adulto con 27% PB, y 15% de humedad). Los animales tuvieron

un periodo de adaptación al alimento (tratamiento 1) de 7 días, posteriormente, al periodo de adaptación recibieron el tratamiento 2 (T2) por un periodo de 23 días. Los perros fueron alimentados dos veces al día, con acceso al agua *ad libitum*. Al final de cada tratamiento (el día 7 y el día 23) se tomaron muestras de sangre a través de la vena yugular en tubos con heparina de cada uno de los animales (N: 4), las muestras fueron transportadas y entregadas al laboratorio para la determinación bioquímica del colesterol sérico y hemograma completo (eritrograma-leucograma). Los resultados de los hemogramas no mostraron diferencias significativas entre los grupos ($p \leq 0,0001$). Mientras que, la presencia de la levadura redujo significativamente los niveles de colesterol sanguíneo ($p \leq 0,0001$) (Tabla 2). Como puede observarse en Tabla 2 los niveles de colesterol sanguíneo presentaron una reducción aproximada del 32% al 36 % comparado con su nivel sérico de colesterol al inicio del ensayo (T1).

Tabla 2. Bioquímica sanguínea en caninos control y tratados

Caninos	Tratamiento	Colesterol (mg/dl)	Valores de referencia (mg/dl)
1	1	336,4 ^b	135 - 260
	2	110,9	
2	1	239,8 ^b	
	2	82,5	
3	1	297,0 ^b	
	2	96,6	
4	1	218,4 ^b	
	2	78,8	

Tratamiento (T)1: Dieta control (DC); T2: DC + *S. boulardii* RC009 (1 x 10⁹ UFC/ kg de alimento)

^b Los valores dentro de las columnas con letras distintas son diferentes significativamente ($p \leq 0,0001$), de acuerdo al test de la mínima diferencia significativa (LSD) Fisher; $n=4$.

Estos resultados están parcialmente de acuerdo con diferentes estudios donde se utilizaron bacterias como probióticos. Por ejemplo, Marcinakova et al. (2006) demostraron que la utilización bacterias como *Enterococcus faecium* (EE3), cepa de origen canino administrada a una concentración de 10⁹ UFC / mL/ día, con una dosis de 2 -3 mL durante una semana fue capaz de reducir los niveles de lípidos, proteínas totales y el colesterol sérico. Lucena et al. (2019) demostraron que la concentración media de

colesterol no cambió durante la administración del probiótico, pero si se observó una disminución significativa ($p < 0,01$) el día 28 de la administración de *Enterococcus faecium* SF68. Por otro lado, otra cepa probiótica de origen canino *Lactobacillus fermentum* (AD1) administrada a una concentración de 10^9 UFC/ml a una dosis de 3 ml diarios, aumentó los niveles séricos de la proteína total y los lípidos totales y redujo la glucosa en el suero (Strompfova et al., 2006). O'Mahony et al., 2009 demostraron que una cepa de origen canino *Bifidobacterium animalis* (B/12) a una concentración de 10^9 UFC fue capaz de aumentar los niveles de ácidos orgánicos en las heces y reducir los niveles de triglicéridos y albúmina sanguínea.

Conclusión. La inclusión de la levadura probiótica (*S. boulardii* RC009) en dietas para mascotas y cerdos fue capaz de influir positiva y significativamente sobre los parámetros bioquímicos, específicamente, sobre los niveles de colesterol séricos en monogástricos, cerdos y perros. Cabe destacar que a pesar de no ser una cepa autóctona en el caso de mascotas también fue capaz de ejercer un efecto benéfico en la variable estudiada.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a BIOFEED TECH SAS por la producción a escala industrial del probiótico probado. A granja SAN JOSÉ, dirigida por el Sr. Cristian Sitto. Al criadero VON JOPE, Criadero de Ovejeros Alemanes, dirigido por el Médico veterinario José Pece, quienes amablemente brindaron los animales y los espacios físicos donde se realizaron los ensayos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Armando, M.R.; Dogi, C.A.; Pizzolitto, R.P.; Escobar, F.; Peirano, M.S.; Salvano, M.A.; Sabini, L.I.; Combina, M. 2011. Saccharomyces cerevisiae strains from animal environmental with aflatoxin B1 binding ability and antipathogenic bacteria influence in vitro. World Mycotoxin Journal 4: 59–68.

Begley, M.; Hill, C.; Gahan, C.G.M. 2006. Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics. Applied and Environmental Microbiology Journal.72: 1729–1738.

Christensen, H.R.; Frøkiaer, H.; Pestka, J.J. 2002. Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells, Journal of Immunology. 168: 171–178.

Dowarah, R.; Verma, A.; Agarwal, N.; Singh, P. 2018. Effect of swine-origin probiotic *Pediococcus acidilactici* FT28 on maintenance of antioxidant status, blood haematology and biochemical profile in early weaned grower-finisher pigs Indian Journal of Animal Sciences. 88(7): 19–25.

FAO/WHO, Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Food Agric Organ United Nation World Health Organ, 2002, p. 2002. Working Group Report.

Grześkowiak, Ł.; Endo, A.; Beasley, S.; Salminen, S. 2015. Microbiota and probiotics in canine and feline welfare. Anaerobe. 34: 14–23.

Hill, C.; Guarner, F.; Reid, G.; Gibson, G.R.; Merenstein, D.J.; Pot, B.; Morelli, L.; Canani, R.B.; Flint, H.J.; Salminen, S.; Calder, P.C.; Sanders, M.E. 2014. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 11(8): 506–14.

Jones, M.L.; Chen, H.; Ouyang, W.; Metz, T.; Prakash, S. 2004. Microencapsulated Genetically Engineered *Lactobacillus plantarum* 80 (pCBH1) for Bile Acid Deconjugation and Its Implication in Lowering Cholesterol. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 1: 61–69.

Joysowal, M.; Saikia, B.N.; Dowarah, R.; Tamuly, S.; Kalita, D.; Choudhury, K.B.D. 2018. Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* FT28 on growth performance, nutrient digestibility, health status, meat quality, and intestinal morphology in growing pigs. Veterinary World.11(12): 1669–1676.

Kim, D.; Min, Y.; Yang, J.; Heo, Y.; Kim, M.; Hur, C.G.; Lee, S.C.; Lee, H.K.; Song, K.D.; Heo, J.; Young-Ok, S.; Lee, D. 2021. Multi-Probiotic *Lactobacillus* Supplementation Improves Liver Function and Reduces Cholesterol Levels in Jeju Native Pigs. Animals. 11(8): 2309.

Lucena, R.; Novales, M.; Blanco, B.; Hernández, E.; Ginel, P.J. 2019. Effect of probiotic *Enterococcus faecium* SF68 on liver function in healthy dogs. Journal of veterinary internal medicine 33(6): 2628–2634.

Marcinakova, M.; Simonova, M.; Strompfova, V.; Laukova, A. 2006. Oral application of *Enterococcus faecium* strain EE3 in healthy dogs, Folia Microbiologica. 51: 239–242.

NUTRINEWS América Latina (2021). <https://nutritionanimal.info/revista-nutrinews-latam/>

O'Mahony, D.O.; Murphy, K.B.; Macsharry, J.; Boileau, T.; Sunvold, G.; Reinhart, G.; Kiely, B.; Shanahan, F.; O'Mahony, L. 2009. Portrait of a canine probiotic *Bifidobacterium* from gut to gut. *Veterinary Microbiology*. 139: 106–12.

Ooi, L.G.; Liong, M.T. 2010. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of in vivo and in vitro findings. *International Journal of Molecular Sciences*. 11(6): 2499–2522.

Sarowska, J.; Choroszy-Krol, I.; Regulska-Ilow, B.; Frej-Madrzak, M.; JamaKmiecik, A. 2013. The therapeutic effect of probiotic bacteria on gastrointestinal diseases. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 22: 759–766.

Silva, B.C.; Jung, L.R.C.; Sandes, S.H.C.; Alvim, L.B.; Bomfim, M.R.Q.; Nicoli, J.R.; Neumann, E.; Nunes, A.C. 2013. In vitro assessment of functional properties of lactic acid bacteria isolated from faecal microbiota of healthy dogs for potential use as probiotics. *Beneficial Microbes Journal*. 4: 267–275.

Strompfova, V.; Marcinakov, M. 2006. Application of potential probiotic *Lactobacillus fermentum* AD1 strain in healthy dogs, *Anaerobe*. 12: 75–79.

Walker, W.A. 2008. Mechanisms of action of probiotics. *Clinical Infectious Diseases*. 46(2): 87–91.